

KANATLILARDA INCLUSION BODY HEPATİTİS VE SON GELİŐMELEK

Hamdi GİRGIN

Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü
Patoloji Laboratuvarı Őefi
Etlık - ANKARA

Viral hepatitis pantropik enfeksiyonların seyri sırasında meydana gelebilir. Bazı enfeksiyonlarda viral etkenler karaciğere karşı özel bir tropizm gösterirler. Evcil memelilerin bir kısım viral enfeksiyonlarında hepatositler içerisinde inkluzyonlar şekillenir. Hepatositlerin çekirdekleri içinde veya sitoplazması içinde şekillenen inkluzyonlar hastalığın tanınmasını sağlarlar. Atların viral rhinopneumonitis olaylarında fôtusun karaciğerinde fokal necrosis'in yanısıra hepatositlerde intranuclear asidofilik inkluzyonlar şekillenebilir. Bu inkluzyonlar atların viral abortus'u için bir ayrıçtır. Gebe koyunlarda atıklara, yeni doğanlar arasında yüksek oranda ölümlere sebep olan ve Güney Afrikada görülen wesselsbron hastalığı da karaciğerde bozukluk yapar. Bu hastalığın etkeni pantropik bir virustur. Erişkin koyunların karaciğerinde yağlı soysuzlaşma ve sarılık yapar. Kuzularda karaciğer parankim hücrelerinde yaygın necrobiose dikkati çeker. Wesselsbron hastalığında hepatositlerin çekirdekleri içinde inkluzyon cisimleri bulunabilir. İnsan ve hayvanlarda görülen ve akut viral bir enfeksiyon olan Rift valley fever, kuzu ve buzağılarda büyük kayıplara sebep olur. Bu hastalıkta koyun ve ineklerin atık yaptıkları görülür. Rift valley fever, da hepatositlerde intrasitoplazmik, asidofilik inkluzyonlar bulunabilir; ayrıca, çekirdek içinde granüler, asidofilik inkluzyonlar bulunabilir. Hepatitis contagiosa canis, olayların çoğunda sentrolobuler soysuzlaşma ve necrosis'in yanısıra hepatositlerde ve Kupffer hücrelerinde intranuclear inkluzyon cisimciklerine sebep olur. Bu cisimciklerin görülmesi, histopatolojik tanı için çok önemlidir.

Kanatlı hayvanlarda inklüzyon şekillenmesi ile karakteristik viral enfeksiyonlar vardır. Bunlardan birisi, infectious laryngotracheitis'tir (ILT). Bu hastalıkta trachea epitellerinde ve gözkapağı conjunctiva epitelerinde intranuclear eozinofilik inklüzyonlar şekillenebilir. Kanatlı çiçeğinde en önemli histopatolojik bulgu, deride yangısel değişikliklerle beraberliği olan epithelial hyperplasia ve eozinofilik, sitoplazmik inklüzyon cisimciklerinin bulunmasıdır. Çiçek hastalığında diğer bozukluklar spesifik değildir. Diğer hayvanlarda olduğu gibi, kanatlılarda da kuduz, meningoencephalitis lymphocytaria disseminata acuta ve neuron'larda intrasitoplazmik eozinofilik negri cisimciklerinin şekillenmesine sebep olur. Gerçekten histopatolojik olarak kuduz tanısı, Negri cisimciklerini bulmaya yönelik çalışmalara dayanır.

Bir herpesvirus'tan ileri gelen ördeklerin viral enteritis'inde bazı araştırmacılar, inklüzyon şekillenmesinden söz etmektedirler. Bu hastalık etkeni, ördek embryo fibroblast kültürlerinde intranuclear inklüzyonlara sebep olur. Ördeklerin viral hepatitis'inde karaciğer hücrelerinde ve endotel hücrelerinde intrasitoplazmik yuvarlak veya oval biçimde elementer cisimler bulunabilir. Hindilerde de bazı viral enfeksiyonların seyri sırasında hastalığı tanıttıcı inklüzyon cisimcikleri şekillenir; örneğin, viral hemorajik enteritis'te adenovirus'lara benzeyen partikülleri içeren intranuclear inclusion'lara, barsaklar dahil bir çok organlardaki reticuloendothelial hücrelerde rastlanılır. Inklüzyon cisimciklerinin şekillenmesine sebep olan viral enfeksiyonlar, sadece evcil kanatlılarda olmaz; baykuşlarda ve atmacalarda (36) inklüzyon cisimcikleri ile özellik kazanan viral hepatitis'ler de vardır. Bu hastalıklarda viral etiyoloji elektron mikroskopik yoklamalar ve virolojik teknikler ile doğrulanmıştır. Hepatositik intranuclear inklüzyon cisimciklerine bir herpesvirus ile enfekte güvercinlerin karaciğerlerinde rastlanılmıştır (7). Kanatlıların henüz etiyolojisi saptanmamış bazı keratoconjunctivitis olaylarında da gözkapağı conjunctiva epitelerinde çekirdek - içi cisimcikler bulunmuştur. GAL '32) ve CELO (21) virusları ile piliçlerde yapılan deneysel enfeksiyonlarda hepatositlerin çekirdekleri içinde inklüzyon cisimleri görülmüştür. Bankowski et al. (3) hindi kökenli ornithosis etkenini civcivlere intratracheal ve intraperitoneal verdiklerinde trachea, karaciğer ve hava keselerinde fazla sayıda hücrelerin içinde veya dışında

LCL cisimciklerini saptamışlardır. Hepatik inkluzyonlar yalnız viral hastalıklarda şekillenmez; örneğin, endotoksin verildikten sonra köpek ve ratların karaciğerlerinde inkluzyon cisimcikleri bulunmuştur (19).

Inclusion body hepatitis (IBH) etiyojisinde ana etken olarak bugün avian adenoviruslar üzerinde bulunmaktadır. İnsanlarda da çeşitli adenovirus serotipleri enfeksiyonlara yol açmaktadır. İnsanlarda adenovirus enfeksiyonu olarak adenopharyngo - conjunctivitis, akut solunum yolu hastalığı, akut febril pharyngitis ve epidemik keratoconjunctivitis'i sayabiliriz (4). Köpeklerde adenoviruslardan ileri gelen solunum sistemi hastalıklarında alveol ve bronchiolus'ların epitel hücrelerinde intranuclear bazofilik inkluzyon cisimcikleri görülebilir. Buzağılarda adenovirus tip 1,2 ve 3'den ileri gelen pneumonia olayları saptanmıştır. Bu gibi olaylarda bronche epitelerinde, septum hücrelerinde intranuclear inkluzyon cisimcikleri bulunabilir. Inkluzyon cisimcikleri eozinofilik ve Feulgen - negatif granüller halinde gelişirler; sonradan bu granüller birbiri ile birleşerek büyük, bazofilik ve Feulgen - pozitif inkluzyonlara dönüşürler (28).

Yukarıdaki açıklamalardan sonra konumuz olan piliçlerin IBH daha iyi anlaşılacaktır.

Piliçlerin hemorajik sendromu ve aplastik anemisi aynı hastalık kompleksinin farklı görüntüleridir. Bu hastalık IBH veya infectious anemia (IA) olarak bilinmektedir. Son yıllarda yapılan bir araştırmada (18) IBH'in German formundan söz edilmektedir. Makroskopik ve mikroskopik yoklamalarda bazı ayrılıkların görüldüğü bu hastalığa araştırmacılar, bulaşıcı hepatomyelopoietic hastalık adını vermişlerdir.

Piliçlerin IA'sı ilk olarak Delmarva'da yetiştirilen 3 - 7 haftalık piliçlerde dikkatleri üzerine toplamıştır. 1951 yılından beri ekonomik önemi olan bir hastalık olarak bilinmektedir (8). Başlangıçta yapılan çalışmalar etiyojisi ile ilgili değildir (8, 13).

Helmboldt ve Frazier (15) 1963 yılında piliçlerin hepatositlerinde intranuclear olarak bulunan, pembeye çalan açık mor renkte, sınırları düzensiz ve bir dereceye kadar granüler görünüşte inkluzyonlar ile karakteristیک bir hastalığı açıkladılar. ABD'de çıkan bu hastalıkla ilgili olarak yapılan bakteriyolojik ve virolo-

jik yoklamalardan etiyolojik bir sonuç alınamamıştır. Hastalığı saptayan araştırmacılar kemik iliğinde makroskopik olarak dikkati çeken değişikliklerden de söz etmişlerdir. Başlangıçta hematolojik yoklamalar yapılmadığı için hemorajik sendrom ve aplastik anemi ile ilişkisi anlaşılamamıştır. Hastalığa yakalanan ve yakalandıktan sonra ölen piliçlerin sayısı düşük oranda olduğundan 1965 yılına kadar bu hastalıkla pek ilgilenilmemiştir. Bu tarihten sonra Kuzey Amerikada salgınların sayısında artma dikkati çekmiştir. Hastalık daha sonra Kanada da görülmüş ve özellikleri dikkate alınarak IBH denilmiştir (20). Kemik iliği ve dolaşan kandan yapılan mikroskopik ve hematolojik yoklamalar sonucu, hemorajik sendrom ve aplastik anemi gün ışığına çıkmıştır. Kazanılan yeni bilgiler karşısında hastalığa IA gibi yeni bir isim de bulunmuştur (35).

Hastalığın Helmboldt ve Frazier tarafından belirlenmesinden sonra çeşitli ülkelerde yapılan araştırma ve aramalara bağlı olarak yaygınlığı az - çok anlaşılmıştır. IBH bugüne kadar ABD, Kanada, Kuzey İrlanda, İngiltere, Almanya (17), Avusturya (22), İtalya (26), Japonya (14), Meksika (2), ve Portekiz'de (9) saptanmıştır. 1970 yılından sonra ABD, Kanada ve İngiltere de fazla sayıda ve büyük salgınlar görülmüştür.

K l i n i k B u l g u l a r

Kansızlık bulguları çoğunlukla yaşamın 4-8 haftaları arasında kendini gösterir. İngiltere'de yapılan epidemiyolojik bir çalışma (25) hastalığın daha çok 42 yaş günü civarında çıktığını belirlemiştir. 28 günlük kanatlılarda seyrek olarak salgınlar çıkmıştır. Japonyada yürütülen bir araştırmada IBH olaylarından ayırımı yapılan adenovirus suşları ve kazanç amaçlı piyasa civcivleri deneysel enfeksiyon için kullanıldığında olumsuz sonuçlar alınmıştır. Sürdürülen laboratuvar yoklamaları, piyasa civcivlerinin kullanılan adenovirus suşuna karşı antikor taşıdığını göstermiştir. Bu durum bize civcivlerde yumurta geçişli parental bağımsızlığın olabileceğini kanıtlamaktadır (27).

Hastalığa yakalanan piliçlerde sarsıntı, ibikte solgunluk, tüylerde kabarma, zayıflama, kığın kirlenmesi, uyuşukluk ve terminal koma gibi klinik bulgular dikkati çekerler. Piliçler çoğunlukla kümeslerde ölü olarak bulunurlar. Hastalık seyrek olarak on günden az, 21 günden fazla sürebilir. Çeşitli hastalık et-

kenleri ile komplike olmayan olaylarda sürüdeki ölümler üçüncü gün zirveye ulaşır; iki-üç gün yüksek seviyede kalır; yedinci, onuncu güne doğru iyice yavaşlar. Ölümler kasaplık piliçlerin kesimlerine kadar uzayabilir. Ölüm olaylarının uzun süre devam etmesinde ikincil enfeksiyonların etkisi büyüktür. Bir sürüde hastalığa yakalanma % 1-20 arasında olabilir. Sürüde aynı oranlar içinde ölümler olabilir. Hastalık kolaylıkla civar kümeslere yayılmaz. IBH'te kesin olmamakla beraber ana hayvandan yeni döllere dikey geçişin olduğu sanılmaktadır. Bu hastalıkta çapraz enfeksiyonlar da olmaktadır. Herşeye rağmen I A'da yayılma sınırlı olmaktadır.

Hastalıkta, şekillenen leukopenia, kısaca aplastik anemi (35) ve bursal lezyonlara ilgili olarak azalmış olan immunolojik savunmadan dolayı ikincil enfeksiyonlar özellikle bakteriyel olanlar önem taşırlar. Buna bağlı olarak IBH olaylarında piliçlerin ayak ve kanat derisinde gangrenli dermatitis bulunabilir. İnsanlarda da leukopenia şekillendiğinde şiddetli enfeksiyonlar olabilmektedir; yangısal reaksiyon çoğunlukla nekrotik tiptedir (30).

.. H e m a t o l o j i k B u l g u l a r

Hastalıklı piliçler normositik, normokromik anemi bulguları gösterirler (34). Alyuvar sayısı $1,500,000/\text{mm}^3$ altına düşer. Akyuvar sayısı $20,000-0/\text{mm}^3$ arasındadır. Trombosit sayısı da $20,000-0/\text{mm}^3$ arasında değişmeler yapar. Dolaşan kandaki bu değişikliklerin kemik iliğindeki hematopoietic dokuların yaranmasına veya bastırılmasına bağlı olduğu anlaşılmıştır. Kemik iliği işlerliğinin engellenmesi söz konusudur. Kemik iliğinin de şekillenen bozukluklar sonucu aplastik anemi oluşmaktadır. Aplastik anemi, dolaşan kandaki hücrelerin yıkımı ile ilgili değildir. Onun için aplastik anemide iç organlarda hemosiderosis görülmez. IBH'de hematolojik yönden önemli olan nokta, kemik iliğinde hücre yapımının çok azalmış olmasıdır. Dolaşan kandaki alyuvar sayısında azalma olduğundan bununla orantılı olarak hemoglobun miktarında da düşme olmaktadır. Aplastik anemide alyuvarların ortalama çapı ve ortalama korpusküler büyüklüğü, genellikle normaldir. Alyuvarlar boyanmış preparatlarda önemli değişmeler göstermezler.

Patolojik Bulgular

IBH'den ölen piliç kadavralarında bozulma erken olmaktadır. Deride nokta nokta veya ekimotik kanamalar görülebilir. Bu kanamalara kanatların alt yüzünde daha çok rastlanılır. Soluk ve sulu kan ile vücudun her tarafındaki peteşiyal kanamalar, pembeden beyaza kadar değişen renkteki kemik iliği hastalığı anımsatabilir. Bütün organlarda aşırı ve koyu kırmızıya çalan renk değişikliği olabilir. Karaciğer değişen derecede büyür; çoğunlukla kahverengi-sarı renktedir. Organ değişen büyüklükte sayısız kanamalarla bezenmiş olabilir. Böbrekler solgundur ve bazı olaylarda hafif olarak şişkindir. Dalak solgundur ve benekli bir görünüşte olabilir. IBH'den ölen piliçlerde bursa Fabricius normalden daha küçüktür. Bazı piliçlerde catarrhal özellikle pneumonie, enteritis ve laryngitis görülebilir. Pericardium, peritoneum ve karaciğer üzerinde fibrinli bir eksudat bulunabilir. Bazı olaylarda da makroskopik olarak deride gangrenli dermatitis dikkati çeker.

Degeneratio adiposa hepatis ve hepatositlerde intranuclear inkluzyon cisimciklerinin bulunması en çok rastlanılan histolojik bulgulardır. Karaciğerdeki yağ dejenerasyonu az-çok değişen derecededir. Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde bu soysuzlaşma kendini, sitoplazma içinde sayısız, küçük vakuoller ile belli eder. Hepatositler içindeki yağ globülleri, Sudan III ile boyanabilirler. Bozuklukların ilerlemiş olduğu hepatositlerin çekirdeklerinde gerilek olaylar; örneğin, karyoliz ve karyoreksis görülebilir. Mikroskopik bakıda şiddetli yağ dejenerasyonu gösteren olayların çoğunda bu patolojik tabloya, intralobuler hemorajiler eşlik eder. Hepatositlerin çekirdekleri içinde şekillenen inkluzyon cisimciklerine, diğer hücre tiplerinde rastlanılmaz. Buna karşın German tipi IBH olaylarında, bursal folliküllerin reticuloepithelial hücrelerinde ve dalağın centrum germinativum'undaki reticulum hücrelerinde intranuclear inkluzyonlar bulunabilir (18). Karaciğerde şekillenen inkluzyon cisimcikleri, kabaca, eozinofilik ve bozofilik olanlar diye, iki tipe ayrılabilir. Bu ayırımda H-E ile boyanan kesitlerde inkluzyonun boya alma durumu, temel olarak alınmıştır. Eozinofilik inkluzyonlar H-E ile pembe-kırmızı boyanırlar. Eozinofilik inkluzyon cisimcikleri biçim, büyüklük ve sayı bakımından değişiklik gösterirler; bazıları büyük ve yuvarlaktır; sınırları düzen-

siz ve açık renkte bir hale ile çevrili olanların yanısıra çekirdeği tam olarak dolduranlar da bulunabilir. Histopatolojik yoklamalarda damla şeklinde veya çekirdeğin her tarafına dağılmış durumda granüler bir görünüş arzeden cisimciklere de rastlanılabilir. Eozinofilik inkluzyonları içeren karaciğer hücrelerinin çekirdekleri, çoğunlukla, hafif derecede şişkindir; çekirdek membranında hafif hyperchromatosis dikkati çeker. Bu inkluzyon cisimcikleri genellikle çok görülürler. Bununla beraber, olaydan olaya sayıca değişmelerin olabileceğini, hatırdan çıkarmamak gerekir. Bazofilik inkluzyon cisimcikleri H-E ile koyu mor veya pembeye çalan açık mor renkte boyanırlar. Bunlara çekirdek içinde kromatin yığını gösteren hücreler eşlik eder. Bazofilik inkluzyonlar şişkin olan çekirdeği doldurmuş görünümde olurlar. Bu tip inkluzyonlara seyrek olarak rastlanılır ve pek fazla bozukluk bulunmayan hepatositlerin çekirdekleri içinde dikkati çekerler (14). İster eozinofilik, ister bozofilik olsun, inkluzyonların hiçbiri Sudan III veya PAS (Periodic acid-Schiff) ile reaksiyon vermez. Küçük, eozinofilik inkluzyon benzeri yapılara, arasına, karaciğer hücrelerinin sitoplazmalarında rastlanılabilir.

IBH'de karaciğer parankiminde fibrinoid necrosis odakları görülebilir; bunlara çoğunlukla heterofiller arkadaşlık eder. Parankimde küçük sahaları kaplayan coagulative necrosis'li kısımların yakınlarında inkluzyon cisimciklerini taşıyan hücreler, fazla sayıda bulunabilir. Lenfositik ve büyük, yuvarlak mononuclear hücrelerin intralobuler kümelenmeleri bir kısım olaylarda görülebilir. Bu arada fazla sayıda heterofillerin sinusoid'lere göçü de, dikkati çekicidir. Olayların çoğunda, interstitial bağdokuda vasat derecede lenfositik infiltrasyon bulunur. Bazı araştırmacılar karaciğerde fibrosis ve safra kanalcıklarında proliferasyondan söz etmektedirler.

Böbreklerde nefrotik değişiklikler dikkati çeker. Pars convoluta proximalis ve pars convoluta distalis'de tubulus epitel hücrelerinin sitoplazmasında sudanofilik vaknolizasyon bulunabilir. Karyopiknoz, karyorekzis ve karyoliz gibi gerilek değişikliklere böbrek tubulus epitellerinde rastlanılabilir.

Olayların hemen hepsinde görülen kemik iliğindeki pancytopenia hastalık için karakteristiktir. Mikroskopik bakıda yağ infiltrasyonu ve iliğin bütün hücre tiplerinde azalma, dikkati

çeker. Histolojik kesitlerde birkaç heterofil myelosit ve hemositoblast görülebilir. Almanya'da çıkan IBH olaylarında kemik iliğinin histolojik bakışı, küçük necrosis odaklarının mevcudiyetini doğrulamıştır.

Bursa Fabricius'ta hemen bütün lymphoid folliküller, hacim bakımından küçülme ve sayıca azalma gösterirler. Folliküllerin medullar olan kısmında reticuloepithelial hücreler bulunur. Daralmış olan kortikal bölgede çok az sayıda lenfositler, bulunur. Folliküller arası bağdokuda üreme ve kalınlaşma dikkati çekicidir. Bu dokuda plasmasitik hücre infiltrasyonu, bir dereceye kadar izlenebilir. Folliküller arası dokuda fibrosis ve luminal epitelyumun proliferatif değişmelerinden kökenini alan glandular yapı en çok görülen bozukluklardandır. Bir kısım olaylarda lymphoid folliküllerde kistik bozukluklar görülür. B. Fabricius'un hemen tamamıyla lenfositlerden yoksun olması, çok önemlidir (25).

Dalakta en belirgin bozukluk, lenfositlerde tükenme ve retikulum hücrelerinde proliferasyonun bulunmasıdır (14, 25).

IBH olaylarının bir kısmında subakut, fokal epicarditis ve myocarditis olabilir. Epicardium üzerinde fazla miktarda hücre kırıntılarını içeren fibrin görülebilir. Myocardium'da çoğunlukla kanamalar dikkati çeker.

Almanya'da çıkan IBH olaylarında timus ve sekal tonsillerde lenfatik dokunun kaybı önemli bir bozukluk olarak saptanmıştır. Yukarıdaki bozuklukların dışında, histopatolojik yoklamalarda laryngitis catarrhalis chronica da görülmüştür. Akciğerlerde congestion, kanamalar ve ödem bulunabilir. Olayların çoğunda iskelet kaslarında hyalin dejenerasyonu, enteritis catarrhalis acuta ve peritonitis yapılacak histolojik yoklamalarda saptanabilir.

Buraya kadar sıraladığımız mikroskopik bozukluklardan anlaşılacağı üzere hepatik lezyonlar, özellikle hepatositlerin çekirdekleri içindeki inklüzyon cisimcikleri, kemik iliğindeki pancytopenia ve bursal atrofi IBH'in en önemli mikroskopik bulgularıdır.

E t i y o l o j i

Cowdry tip-A inklüzyon cisimciklerinin görülmesinden sonra IBH etiyojisinde viral etken aramaya yönelik çalışmalar yo-

ğunluk kazanmıştır. İlk elektron mikroskopik yoklama, Laursen-Jones (23) tarafından yapılmıştır. Bu araştırmada fazla sayıda virus partiküllerinin görülmesi üzerine çalışmalar büyük oranda hızlanmıştır. 1973 yılında Fadly ve Winterfield (10) IBH, aplastik anemi ve kasiçi kanamalar gösteren piliçlerin karaciğerlerinden virus benzeri bir etkeni izole etmişlerdir. Araştırmacılar bu etkene inclusion body hepatitis virusu (IBHV) demişlerdir. Bu çalışmada hastalıklı hayvanların karaciğerlerinden hazırlanan süspansiyon, civciv embryolarının sarı kesesine ve kori-oallantoik membranına verilmiştir. İnokulasyon yapılan embryolardan başka, 6 günlük ve 4 haftalık SPF civcivler de virusa karşı alınan bulunmuştur. İzole edilen virus suşuna Tipton denilmiştir. Daha sonra Stein et al. (34) izole edilen DPI-2'nin bazı özelliklerini belirttiler. Bu suş SPF piliçlerde anemik durum yaratabiliyordu.

Pettit et al. (29) IBH olaylarından yaptıkları elektron mikroskopik yoklamalarda belirli bir virus partikülüne karaciğerde rastlamamışlardır. Buna rağmen civciv ve ördek embryo hücre kültürlerinde sitopatik değişiklikler yapan bir virus izole etmişlerdir. Bickford et al. (5) kendiliğinden ve deneysel IBH olaylarından alınan karaciğer örneklerinde elektron mikroskopik yoklamalar yapmışlardır. Virus partikülleri hem kendiliğinden hem de deneysel olan olaylarda saptanmıştır. Kendiliğinden olan olaylarda virus partikülleri hepatotilerin sitoplazmasında ve hücrelerarası aralıklarda bulunmuştur. Buna karşılık deney civcivlerinde virus partikülleri, sayısız olarak karaciğer hücrelerinin çekirdekleri içinde görülmüştür. Bu olaylarda virus partiküllerinin hexagonal ve yuvarlak biçimde oldukları, bazı sahalarda kristalin düzende oldukları, centroid ve dış katın koyu olarak boyandığı saptanmıştır. Bu araştırmada IBHV kullanılmıştır. Gözlenen virus partükülleri hacim ve yapı bakımından herpesvirus nukleokapsidlerine ve adenovirus virionlarına benzer bulunmuştur. Daha sonra Winterfield et al (37) tarafından civciv embryosu kullanılarak quail bronchitis virus (QBV) ve CELO virus antiserumları ile nötralize edilen bir adenovirus suşu, Indiana C izole edilmiştir. Indiana C suşu çeşitli yaş gruplarında hafif solunum hastalığına ve hepatitis'e sebep olmuştur. Bu suş embryolarda da hepatitis yapmış ve histolojik yoklamalarda intranuclear inkluzyonlar gözlenmiştir. (12).

Rosenberger et al. (31) Stein ve Fadly tarafından izole edilme suşların adenoviruslardan olduğunu belirtmiştir. IBH ve aplastik anemi bulguları gösteren piliçlerden izole edilen DPI-1 ve DPI-3 suşlarının da adenoviruslardan olduğunu saptamıştır. Bu araştırmacılar, DPI-1 suşunun serolojik ve patolojik yönünden Tipton suşundan farksız olduğunu göstermişlerdir. DPI-1, DPI-2, DPI-3 ve Tipton olarak tanınan ve IBH ve aplastik anemili piliçlerin karaciğerlerinden izole edilmiş olan suşlardaki virus partikülleri 50 - 100 nm arasında büyüklük göstermişlerdir. Bu 4 suşun da DNA içerdiği anlaşılmıştır. Suşlar pH 3.0 ile inaktif hale gelmemişlerdir; ayrıca, kloroform ve eter enfektiviteyi etkilememiştir. Bütün suşlar 50 C'ye 3 saat dayanıklı kalmışlardır. Piliç ve rat hücrelerinin hemaglutinasyonu ortaya konamamıştır. DPI-1 ve Tipton suşları, inokule edilen civcivlerde IBH'in tipik lezyonlarını meydana getirmişlerdir. Buna karşın DPI-2 ve DPI-3'ün patojen olmadıkları anlaşılmıştır. Civciv embryolarında yapılan virus - nötralizasyon (VN) testleri DPI-1 ve Tipton'un antijenik olarak birbirine benzer olduklarını göstermiştir. DPI-2 ve DPI-3 serolojik olarak ayrı bulunmuştur. Bütün bu özellikler dikkate alınarak 4 suş, adenovirus olarak sınıflandırılmıştır. Araştırmacılar ayrıca, Tipton ve bununla sıkı ilişkisi olan etkenlerin yaygınlığından ve IBH'i yapabileceklerinden söz etmektedirler.

Macpherson et al. (25) civciv böbrek hücre kültürlerine yapılan ekimlerde, hücrelerin yuvarlaklaşması şeklinde sitopatik etki (SPE) görmüşlerdir. Böyle kültürlerden yapılan serolojik ve elektron mikroskopik incelemelerde avian adenovirus, tip H 131'in mevcudiyeti anlaşılmıştır. Bu virus çeşitli yollarla SPF civciv ve piliçlere verildiğinde tipik lezyonlar yapmamıştır; fakat, damar içine verildiğinde IBH'e bir yaklaşım olmuştur.

Ahne et al. (1) ABD ve Almanyadaki olaylardan izole edilmiş suşların elektron mikroskopta Reo - virus benzeri bir yapı gösterdiklerini belirtmişlerdir. Almanya olaylarında etken olarak Reo - virusa katılma, serolojik olarak destek görmüştür. Almanyada izole edilen suşların embryoya etkisi ve doku kültüründeki özellikleri, diğer suşlardan biraz farklı bulunmuştur.

Japonya'nın Tottori kentinde bulunan bir tavuk çiftliğinde çıkan IBH salgınlarında avian adenovirus benzeri etkenler izole edilmiştir. Bu etkenlerin inokule edildiği civciv böbrek hücre kültürlerinde yuvarlaklaşma biçiminde CPE ve intranuclear inklüzyon cisimcikleri saptanmıştır. İzole edilen suşlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri dikkate alınarak avian adenovirus olarak sınıflandırılmıştır. Elektron mikroskopik yoklamalarda bu virüslere avian - adenovirus - associated virus'un (AAAV) eşlik ettiği görülmüştür. VN testlerinde, Japonya'da izole edilen 5 suşun da aynı serolojik özellikleri gösterdiği anlaşılmıştır. Araştırmacılar IBH'in başlıca etkeninin avian adenovirus olduğunu savunmuşlardır (27).

1976 yılında normal bir hindinin kluake'sinde bulaştırma ile T - 75 olarak bilinen bir adenovirus suşu izole edilmiştir (6). İki taraflı çapraz nötralizasyon testleri CELO ile yapılmış ve etken serotip-1 olarak sınıflandırılmıştır. Bu etken hem civcivlerde, hem de hindi palazlarında hepatitis, solunum hastalığı ve bursal atrofi yapmıştır. Etken serolojik olarak CELO'dan farksız olmasına rağmen, hastalık yapma gücü bakımından değişik bulunmuştur.

McCracken et al. (24) 1976 yılında yaptıkları bir araştırmada, IBH olaylarından izole ettikleri bir adenovirus suşunu, oral ve intranasal olarak SPF civcivlere vermişlerdir. Civcivlerde patolojik lezyon saptanamamıştır. Hepatitis görülen veya görülmeyen olaylardan izole edilen avian adenovirus suşları i/m olarak civcivlere verildiğinde farklı sonuçlar alınmıştır. Hepatitis görülen olaylarda inklüzyon cisimcikleri bazofilik özellik göstermiştir. IBH'li piliçlerden izole edilen bir Reovirus, deneysel çalışmalarda karaciğerde yangı yapmamıştır. Hindilerden ayırımı yapılan adenovirus'lar, güvercinlerden ayırımı yapılan adenovirus'lar deneysel çalışmalarda olumsuz sonuçlar vermişlerdir. Güvercin kökenli bir herpesvirus da deney piliçlerinde hepatitis yapmamıştır.

1976 yılında İtalya'da yapılan bir araştırmada (26) civciv embriyosu ve doku kültüründe üretilen bir suş, tipik IBH bulgularına sebep olmuştur. Bu virus elektron mikroskopta bir adenovirus veya parvovirus görüntüsü vermiştir.

Yukarıda yapılan açıklamalardan da anlaşılacağı üzere IBH etkeni kesinlikle bir virustur. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik ölçüler içinde başlıca etkenin bir adenovirus olabileceği yolunda araştırma sonuçlarına dayalı yargılar vardır. Çeşitli virüsler inkluzyon cisimciklerinin şekillenmesi ile karakteristik bir hepatitis yapabilirler. Olaylara karışan viral veya bakteriyel ikincil enfeksiyonlar da olabilir. Gumboro gibi immüno- lojik savunmanın azalmasına sebep olan bazı hastalıkların IBH olaylarında etkinliği de bulunabilir. Şu veya bu yardımcı etkime- ler bir kenara, bugüne kadar sürdürülen araştırmalar piliçlerde görülen IBH'in avian adenovirus'a bağlılığını göstermiştir.

IBH'de izolasyon, propagasyon, titrasyon, virus özellikleri ve nötralizasyon için 5-7 günlük SPF civciv embriyoları kullanılmaktadır. Bunun yanısıra civciv embryo böbrek hücre kültür- lerinden de yararlanılmaktadır. Hücre kültürleri 20 günlük SPF embriyolardan hazırlanmaktadır.

Hastalık etkeni olan virüslerin en iyi kaynağı, can çekiş- mekte olan veya şiddetli anemik bulgular gösteren piliçlerin karaciğerleridir. Deneysel çalışmalarda virüsün ayırımı, inoku- lasyondan sonra altıncı güne kadar kolaylıkla yapılabilir. Çalışmalarda kullanılan karaciğer süspansiyonu phosphate-buffe- red saline (PBS) ile yapılır; pH 7,4'tür. Her ml. için 1000 ünite penicilin ve 1-2 mg. streptomycin kullanılır.

İnokulasyon için bir haftalıktan küçük SPF civcivler kul- lanılır. Civcivlere intraabdominal olarak inokulasyon yapılır. İki gün sonra hepatitis'ten ölümler görülmeye başlar; ölüm olay- ları 3 hafta kadar uzayabilir.

Virus 5-8 günlük tavuk embriyoları için öldürücüdür. Sarı kesesine yapılan inokulasyondan sonra cüce kalma ve con- gestion gibi bulgular görülebilir. İnokulasyondan 3-10 gün son- ra ölümler dikkati çeker. Karaciğerde güçlkle sezilen fokal nekrotik bölgeler bulunabilir. Çoğunlukla karaciğerde hemora- jik lekelenmeler olur. Histopatolojik yoklamalarda intranuc- lear inkluzyon cisimcikleri görülür.

Embryo korioallantoik membranına inokulasyon yapıldı- ğında 5' gün içinde kalkık plaklar şekillenir.

Viruslar civciv embryo böbrek hücre kültürlerinde adenoviruslar için karakteristik yuvarlaklaşma şeklinde SPF gösterirler. Ayrıca, hücre çekirdekleri içinde inkluzyon cisimcikleri şekillenir. Kültürlere 5-bromo-2'deoxyuridine eklendiğinde viral üreme önlenir.

Hepatositlerdeki veya allantoik sıvıdaki virionlar tipik icosahedral simetri gösterirler. Kapsomer sayısı 252 dir.

Serolojik idantifikasyon için, hem serumların virus nötralizasyonu, hem de, embryo alınganlık testleri yapılır.

Virus büyüklüklerini saptamak için milipore filtreler kullanılır.

IBH'de hematokrit değerler, mikroteknik ile saptanır.

A y ı r ı c ı T e ş h i s

Kanathlı hayvanlarda erythroblastosis ve granuloblastosis olaylarında anemi şekillenmektedir. Boyanmış frotilerde olgunlaşmamış erythroid ve myeloid seriden hücrelerin fazla sayıda görülmeleri, IA'dan ayrımı sağlar. Bazı araştırmacılar akut Marek hastalığında da anemiden söz etmektedirler. Deri, sinir, bursa Fabricius ve iç organlardan yapılacak histopatolojik yoklamalar ile Marek hastalığı kolayca tanınabilir. Dolaşan kandan yapılan frotiler Wright veya Giemsa tekniklerine uygun olarak boyandıklarında aegyptianella, haemoproteus, leucocytozoon, plasmodium, spirochaete ve trypanosome enfeksiyonları kolayca teşhis edilebilir. Schizont'lar ve cocyst'ler intestinal kanama olduğunda histopatolojik ve koprolojik yoklamalarla ortaya konabilir; kısaca, coccidiosis tanısında güçlük çekilmez, Karaciğer lezyonları ve sekal duvarın ulceration'u ve mikroskopik olarak etkenlerin demonstrasyonu histomoniasis'i tanıtır. Özel kültür teknikleri ile kanathlıların bakteriyel hastalıklarının ayırımları yapılır. IBH'de ikincil enfeksiyon etkenlerinin bakteriel olabileceğini unutmamak gerekir.

Vitamin - K, demir ve bakır yetersizlikleri saha şartlarında görülmezler. Deneysel vitamin - K yetersizliği kasdokuda kanamalara sebep olur ve prothrombin zamanı uzar. Deneysel demir ve bakır yetersizliklerinde mikrositik, hipokromik anemi şekillenir. Mycotoxicosis olaylarında hemolitik anemi ve kemik iliğinde hiperplazi vardır. Sulfonamide tedavilerinde bulaşıcı

kansızlığa benzer bulgular olabilir; bunun ayırımı için histopatolojik yoklamalara ve virus izolasyonuna gerek vardır. Asidofilik intranuclear inklüzyon cisimciklerine embryonik karaciğer kesitlerinde rastlamak, tanı için yeterlidir (33). İBH hasta ve ölü piliçlerin karaciğer, kemik iliği ve bursa Fabricius'undan yapılacak histopatolojik yoklamalarla tanınabilir. Sadece bursa Fabricius'tan yapılacak histopatolojik yoklamalar olayların çoğunda lymphoid leukosis, Marek hastalığı ve Gumboro'nun ayırımlarını sağlayabilir (16, 33). Yalnız, bursa Fabricius'un fizyolojik gerilek yapısının çok iyi bilinmesi gerekir (11).

K a y n a k l a r

- 1 — Ahne, W., Dorn, P., Hoffmann, R., Wessling, E., and Wiedemann, H., 1974. Zur Charakterisierung des Erregers der Sogenannten Einschlusskörperchen-Hepatitis beim Huhn. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81, 299-302,
- 2 — Antillon, A., and Lucio, B., 1975. Inclusion Body Hepatitis in Mexico. Avian Dis., 19, 195-197
- 3 — Bankowski, R. A., Gerlach, H., and Mikami, T., 1968. Histologic Changes and Inclusion Bodies in Chickens Inoculated with an Ornithosis Agent. Avian Dis. 12, 217-226
- 4 — Berke, Z., 1974. Tıbbi Viroloji 1, 791
- 5 — Bickford, A. A., Krasovich, M. A., and Fadly, A. M., 1973. Demonstration of Virus Particles in Hepatic Cells of Chickens with Inclusion Body Hepatitis. Avian Dis., 17, 629-638,
- 6 — Cho, B. R., 1976. An Adenovirus from a Turkey Pathogenic to both Chicks and Turkey Poults. Avian Dis., 20, 714-723.
- 7 — Cornwell, H. J., Weir, A. R., and Follet, E. A. C., 1967. A Herpes Virus Infection of Pigeons. Vet. Rec., 81, 267
- 8 — Cover, M. S., Mellen, W. J., and Gill, E., 1955. Studies of Hemorrhagic Syndrome in Chickens. Cornell Vet., 45, 366-386,
- 9 — Durao, C., 1973. Corpus de Inclusao Intranucleares Num Caso Raro de Hepatite em Frangos de Carne. Anais du Escola Sup. Med Vet., 15, 41-53
- 10 — Fadly, A. M., and Winterfield, R. W., 1973. Isolation and some Characteristics of an Agent Associated with Inclusion Body Hepatitis, Hemorrhages and Aplastic Anemia in Chickens. Avian Dis., 17, 182-193

- 11 — **Firth, G. A., 1977.** The Normal Lymphatic System of the Domestic Fowl. *Vet. Bull.*, 47, 167-179
- 12 — **Gallina, A. M., Winterfield, R. W., and Fadly, A. M. 1973.** Adenovirus Infection and Disease. II - Histopathology of Natural and Experimental Disease. *Avian Dis.*, 17, 343-353
- 13 — **Gray, J. E., Snoeyenbos, G. H., and Reynolds, I. M., 1954.** The Hemorrhagic Syndrome of Chickens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 125, 114-151
- 14 — **Hakura, C., Yasuba, M., and Goto, M., 1974.** Histopathological Studies on Inclusion Body Hepatitis in Broiler Chickens. *Jap. J. Vet. Sci.*, 36, 329-340
- 15 — **Helmboldt, C. F., and Frazier, M. N., 1963.** Avian Hepatic Inclusion Bodies of Unknown Significance. *Avian Dis.*, 7, 446-450
- 16 — **Hitchner, S. B., 1972.** Infectious Bursal Disease. in «Diseases of Poultry» edited by M. S. Hofstad, B. W. Calnek, C. F. Helmboldt, W. M. Reid, and H. W. Yoder, Jr., Sixth ed., 760-768, The Iowa State Univ. Press, Ames
- 17 — **Hoffmann, R., Dorn, P., and Dangschat, H., 1973.** Ein Neues Durch Panmyelopathia, Anamie und Hamorrhagische Diathese Gekennzeichnetes Syndrom beim Huhn. *Zbl. Vet. Med.*, B 20, 741-746
- 18 — **Hoffmann, R., Wessling, E., Dorn, P., and Dangschat, H., 1975.** Lesions in Chickens with Spontaneous or Experimental Infectious Hepato-Myelopoietic Disease (Inclusion Body Hepatitis) in Germany. *Avian Dis.*, 19, 224-236
- 19 — **Holmes, D. D., and Smith, P. D., 1969.** Inclusion Bodies in Hepatic Cytoplasm of Dogs and Rats After Administering Endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, 30, 811-815
- 20 — **Howell, J., MacDonald, D. W., and Christian, R. G., 1970.** Inclusion Body Hepatitis in Chickens. *Can. Vet. J.*, 11, 99-101
- 21 — **Kawamura, H., and Horiuchi, T., 1964.** Pathological Changes in Chickens Inoculated with CELO Virus. *Natl. Inst. An. Hlth. Quart.*, 4 (1), 31-39
- 22 — **Köhler, H., and Hromatka - Vasicek, L., 1974.** Einschlusskörper - Hepatitis bei Broilern Österreich. *Wien, Tierarztl. Mschr.*, 61, 90-95
- 23 — **Laursen-Jones, A. P., 1972.** *Vet. Rec.* 90, 166
- 24 — **McCracken, R. M., McFerran J. B., Evans, R. T., Connor, T. J., 1976.** Experimental Studies on the Aetiology of Inclusion Body Hepatitis. *Av. Path.* 5 (4), 325-339
- 25 — **Macpherson, I., McDougall, J. S., and Laursen - Jones, A. P., 1974.** Inclusion Body Hepatitis in a Broiler Integration. *Vet. Rec.*, 95, 286-289

- 26 — **Mandelli, G., Lodetti, E., Cervio, G., 1976.** Ricerche Anatomo - Patologiche. Ultramicroscopiche e Virologiche su un Episodio di Epatite a Corpi Inclusi Nucleari del Pollo. Clinica Veterinaria, 99 (8), 400-414
- 27 — **Otsuki, K., Tsubokura, M., Yamamoto, H., İmamura, M., Sakagami, Y., Saio, H., and Hookawa, D., 1976.** Some Properties of Avian Adenoviruses Isolated from Chckens with Inclusion Body Hepatitis in Japan. Avian Dis., 20, 693-705
- 28 — **Pamukçu, M., 1970.** Veteriner Patoloji II, 120-125, Ank. Üniv. Bas.
- 29 — **Pettit, J. R., and Carlson, H. C., 1972.** Inclusion Body Hepatitis in Broiler Chickens. Avian Dis., 16, 858-863
- 30 — **Richter, M. N., 1966.** Blood and Bone Marrow. in «Pathology» edited by W. A. D. Anderson, Vol: 2, fifth ed., 964-1008, The CV. Mosby Comp., Saint Louis.
- 31 — **Rosenberger, J. K., Eckroade, R. J., Klopp, S., and Krauss, W. C., 1974.** Characterization of Several Viruses Isolated from Chickens with Inclusion Body Hepatitis and Aplastic Anemia. Avian Dis., 18, 399-409
- 32 — **Sharpless, G. R., and Jungherr, E. L., 1961.** Characterization of Viruses Obtained from Lymphomatous Liver. Am. J. Vet. Res., 22, 937-943
- 33 — **Siccardi, F. J., and Burmester, B. R., 1970.** The Differential Diagnosis of Lymphoid Leukosis and Marek's Disease. Tech. Bull., No. 1412, United States Depart. of Agric., Washington D.C.
- 34 — **Stein, G. S., Carey, T. T., and Snedeker, C. J., 1973.** Hemorrhagic Anemia Syndrome Induced in Experimental Chickens, I. Hematology and Lesions in Field and Experimental Cases. Forty-fifth Northeastern Conf. on Avian Diseases, West Virginia University, Morgantown, West Virginia, June 17-19
- 35 — **Stein, G., 1975.** Infectious Anemia (Inclusion Eody Hepatitis). In «Isolation and Identification of Avian Pathogens» edited by S. B. Hitchner, C. H. Domermuth, H. G. Purchase and J. E. Williams, 271-276, Arnold Printing Corp., Ithaca New York
- 36 — **Ward, F. P., Fairchild, D. G., and Vuicich, J. V., 1971.** Inclusion Body Hepatitis in a Prairie Falcon. J. Wildlife Dis., 7, 120-124
- 37 — **Winterfield, R. V., Fadly, A. M., and Gallina A. M., 1973.** Adenovirus Infection and Disease: I. Some Characteristics of an Isolate from Chickens in Indiana. Avian Dis., 17, 334-342