




Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Enfeksiyöz Bronşite Karşı Sprey Aşılama Saha ve Kuluçkahane Uygulamalarının Karşılaştırılması

 Kayhan ÖZKAN ^{a,*}

^a CEVA Hayvan Sağlığı A.Ş., Kanatlı Birimi, İstanbul, TÜRKİYE

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: kayhanozkan@hotmail.com

DOI: 10.29130/dubited.1167064

Öz

Bu çalışmada ticari broyler hayvanlara enfeksiyöz bronşit aşısının sprey yöntem ile kuluçkahanede ve sahadaki uygulamasının ardından elde edilen aşı alım verileri kıyaslanmıştır. Her iki uygulama sprey metot kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada 10.200 ve 10.400 adet giriş kapasitesine sahip 2 adet broyler sürüsünün birine kuluçkahanede, 1 günlük yaşında, diğerine ise 12 günlük yaşta sprey enfeksiyöz bronşit (IB) aşısı uygulanmıştır. Aşılamayı takip eden 4. gün içerisinde her iki uygulamanın yapıldığı sürülerden trake sürüntüleri alınarak RT-PCR analizi yapılmıştır. Kuluçkahanede sprey uygulaması ardından çiftliğe gönderilen civcivlerden 5.gün ve saha sprey aşısı uygulaması yapılan sürüden ise 17. gün trakeal sürüntü örnekleri alınmıştır. Sürüntü örneklerinden RT-PCR analizi yapılmıştır. Her iki grubun aşı virüsü varlığı one sample t testi ile kıyaslanmıştır. Elde edilen bulgulara göre kuluçkahanede 1. gün uygulanan sprey uygulaması sonrasında elde edilen aşı alım değerleri, geleneksel saha aşılmasına göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Saha aşısı uygulamaları birçok değişkeni içinde barındırmaktadır ve hayvanların aşı alım değerlerini optimum düzeyde tutmak sınırlı başarıya sahiptir. Bu çalışmada kuluçkahanede üniform yapıda konumlandırılmış hayvanların uygun doz ve teknik ile aşılmalari neticesinde saha aşısı uygulamalarına göre daha yüksek aşı alım oranlarına sahip olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: Sprey aşısı, Kuluçkahane aşılması, Enfeksiyöz bronşit, Broyler aşılama yöntemi

Comparison of Field and Hatchery Practices in Spray Vaccination Against Infectious Bronchitis

ABSTRACT

In this study, vaccine intake data obtained after the administration of infectious bronchitis vaccine to commercial broiler animals by spray method in hatchery and in the field were compared. Both applications were made using the spray method. In the study, spray infectious bronchitis (IB) vaccine was administered to one of the 2 broiler flocks with an entry capacity of 10,200 and 10,400 at the age of 1 day, and the other at the age of 12 days. Tracheal swabs were taken from the flocks in which both treatments were applied, and RT-PCR analysis was performed on the 4th day following vaccination. Tracheal swab samples were taken on the 5th day from the chicks sent to the farm after the incubation spray application and on the 17th day from the field sprayed herd. RT-PCR analysis was performed from swab samples. The presence of vaccine virus of both groups was compared with one sample t test. According to the findings obtained, the vaccine uptake values obtained after the spray application applied on the 1st day of incubation were statistically significant compared to the traditional field vaccination ($p<0.05$). Keeping the vaccine intake values of animals at an optimum level has limited success, as vaccine applications in the field contain many variables. In this study, it was determined that animals positioned in a uniform structure in the

hatchery were vaccinated with the appropriate dose and technique, and had higher vaccine take rates compared to field vaccinations.

Keywords: Spray vaccine, Broiler vaccination, Infectious bronchitis, Broiler vaccination method

I. GİRİŞ

Kanatlı koronavirüsü, kuşları enfekte eden gama korona virüs cinsinden bir virüs türüdür; 2018'den beri kuşları enfekte eden tüm bu gama koronavirüsler tek tür olarak sınıflandırılmıştır [1]. Daha önce bulaşıcı bronşit virüsü (IBV) olarak bilinen kanatlı korona virüs türü, tavukları enfekte eden tek korona virüstür [2],[3]. Solunum yollarını, bağırsakları, böbrekleri ve üreme sistemini etkileyen oldukça bulaşıcı bir hastalık olan kanatlı enfeksiyöz bronşitine neden olur [4], [5]. Bulaşıcı bronşit virüsü hem et üreten hem de yumurta üreten tavukların performansını etkiler ve kanatlı endüstrisinde önemli ekonomik kayıplardan sorumludur [6],[7]. Kanatlı korona virüs türü, etlik piliç haricinde hindilerde gastrointestinal hastalığa neden olmaktadır [8],[9].

Ticari broylerlerin enfeksiyöz bronşit hastalığına karşı bağışık durumda kalması için aşılınması gerekmektedir [10],[11],[12]. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1970 yılında IBV tespitine yönelik serolojik testler kullanıldı. Enfeksiyöz bronşit virüsünün ilk olarak izolasyonu sağlanan serotipi yine bu bölgede yer alan Massachusetts (MASS) suşudur. 2005 yılına gelindiğinde ise 82 farklı IBV varyantının tespiti sağlanmıştır. Türkiye'de tespit edilen serotiplendirme çalışmalarında ise varyant suşları gözlenmiştir. Enfeksiyöz bronşite karşı kanatlıların aşılınması yetiştirilme tipine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Broylerler kısa yaşam süreleri göz önünde bulundurulduğunda kuluçkada 1 veya 3 serotipten oluşan aşilar ile aşilılarak erken bağışıklığın tetiklenmesi amaçlanmaktadır. 45 günlük ve daha üzerindeki yaşlarda bakımı planlanan hayvanların ise sahada 10-15. günler arasında tekrar aşilılarak antikor yanıtının artırılması hedeflenmektedir. Enfeksiyona karşı aşılama başarısında en etkili kontrol ise hastalığa yol açan etkeni tiplendirme ile mümkündür. Ancak aşilar birkaç türde suş içermesine rağmen sahada onlarca varyant suş mevcuttur. Bundan dolayı birden farklı serotip içeren aşilar kullanılarak korumanın kapsayıcılığı artırılmaktadır. Aşılama sonrasında ise korumanın derecesinin belirlenmesinde virüs izolasyonu ve siliostaz testi gibi değerlendirmeler yapılarak bağışıklama stratejileri değerlendirilmektedir. Korumanın mikroskopik kanıtlarına dayanarak yapılan incelemelere ilave olarak elde edilen bu bulgular aşiların üretim safhalarını da farklılaştırabilir. Bu gözlemler spesifik patojenden yoksun (SPF) hayvanlarda yapıldığında saha koşullarında üretilen hayvanlardan farklı antikor yanıtı oluşabilir. Yumurtacı sürülerde ise yumurtlamaya geçtikten sonraki süreçlerde inaktif aşilar ile bağışıklık yanıtı oluşturulmaktadır. Aşılama programına ilave olarak biyogüvenlik ve hijyen standartlarının yükseltilmesi hastalık ile mücadele önemlidir. Enfeksiyöz bronşit virüsü sıklıkla gen yapısındaki mutasyonlardan dolayı suş çeşitliliği oluşturmaktadır [13]. Virüsün S1 gen dizi yapısı incelenerek oluşturulan filogenetik ağaç ile IBV genotipi tanımlanmıştır. Ayrıca kanatlı korona virüs 36 soydan oluşmaktadır [14], [15]. Dünya genelinde ticari kümes hayvanlarına uygulanan aşılama stratejileri bu suşların ilgili bölgelerdeki varlığı ile ilişkilidir. Homolog aşılama ile sahadaki olası bir suşa karşı bağışıklık oluşturulurken, heterolog koruma konseptine göre birden fazla suşa karşı koruma elde edilmektedir. Enfeksiyöz bronşit virüsü filogenetik ağacı incelendiğinde varyant ve Mass suşlarının kombine uygulanması sonucunda sahadaki potansiyel viral suşlara karşı koruma yanıtı şekillenmektedir [16], [17], [18].

Sürülere yapılan aşiların koruma düzeyi ilgili aşiların uygulama yolu ve sahada bulunan serotiplerle doğrudan ilişkilidir. Broyler sürüler için günümüzde en hızlı ve etkin aşı uygulama seçeneği kitlesel uygulamalardır [19]. Enfeksiyöz bronşit aşiları için ise sprey olarak uygulanan aşilar mümkün olduğunca hayvanları bir araya toplayarak optimize edilmektedir [20]. Yapılan çalışmalar erken aşılama ile indüklenen humoral bağışıklığın anneden türetilmiş antikorlar ile etkileşime girdiğini göstermektedir [21],[22]. Aşı uygulamaları kuluçkahanede olursa civciv kasasında, sahada ise kümes bölmelerinin henüz açılmadığı 2. haftanın içerisinde hayvanları bir araya yakınlaştırarak gerçekleştirilmektedir. Kanatlı yetiştiriciliğinde spesifik olarak içme suyuyla veya sprey yöntemle uygulanan canlı atenuë

aşıların kullanımı yaygındır [23]. Buna karşın etlik piliçlerin civcivlerine Gumboro veya Newcastle gibi hastalıklar ile mücadele amacıyla kuluçkahanede deri altı uygulaması da yapılmaktadır [24]. Hastalıklara karşı optimum koruma oluşturmak için aşının tüm hayvanlara homojen olarak ulaştırılması önemlidir. Sahada sprey aşı uygulanan sürülerin aşı damlacıklarından kaçması veya altlığa düşen aşı damlacıkları nedeniyle bağışıklık yanıtı gelişmeyebilir [25]. Saha sprey aşısı hazırlanması sırasında canlı virüs aktivitesini durduracağı için klorsuz su kullanılmalıdır [26]. Aşılacak tavukların yaşları idari şartlara göre değişebilir ancak 1.000 doz için en az 250ml su kullanımı önerilmektedir [27]. Aşı süspansiyonu, doğru sayıdaki tavuklara damla boyu 137-153µm olan kalın damlacıklı spreyleme ile 30-40 cm uzaklıktan uygulanmalıdır [28], [29]. Aşı uygulamasının optimum şartlarda uygulandığı durumlarda uygulamadan sonra hayvanların burun ve gaga organlarından giren canlı ateneu virüs trakede replike olmaya başlamaktadır [30]. Aşılardan 3-5 gün sonra trakede bulunan aşı virüsü bağışıklığı indükleyen mekanizmaları harekete geçirerek hücrel bağışıklık oluşmasına katkı sağlamaktadır [31],[32]. Bu aralık günlerinde alınan örnekleme çalışmalarında optimum doğruluk ile virüs tespiti sağlanmaktadır [33],[34]. Çalışmalarda virüsün trakedeki replikasyonu sırasında trakeal sürüntü ile alınan örneklerde aşı virüsünün saptandığı rapor edilmiştir. Zayıflatılmış canlı 793B grubundaki aşıları virülens özellikleri bakımından değerlendirildiğinde filogenetik soy ağacında birbirleri ile benzer uzaklıklardadır [35]. Aşılardan 7 gün ve sonrasındaki yaşlardan sonra alınan trake sürüntülerinde ise vücudun savunma sisteminin aşı virüsünü bertaraf etmesi nedeniyle ilgili organlarda virüse ait genetik materyal görülmemektedir [36], [37]. Bu bakımdan aşıların hedef organ vasıtası ile hayvanlarda oluşturacağı potansiyel bağışıklık yanıtını gözlemleyebilmek için yine aşıların giriş yolu olan trakelerinde moleküler testler ile analizler yapılabilir. Bu çalışmada IB hastalığına karşı bağışıklık yanıtı oluşturmak amacıyla uygulanan aşıların kuluçkahanede ve sahadaki aşılama yöntemlerini kıyaslayarak aşı virüsünün hayvanlardaki varlığı araştırıldı.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

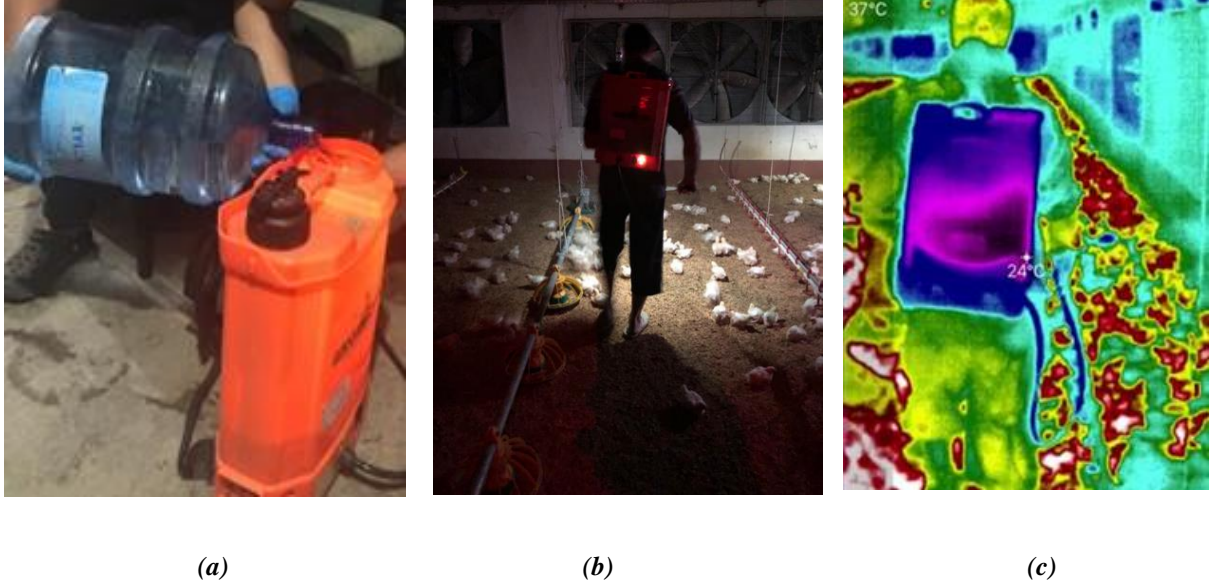
A. HAYVANLAR VE ÖRNEKLEME PROTOKOLÜ

Çalışma, 10.200 adet Ross 208 ırkı ile kuluçkahanede, diğer 10.400 adeti ise sahadada sprey IB aşısı ile aşılanmış civcivden oluşan iki grup üzerinde yürütülmüştür. Civcivler 1. Günlük yaşta kuluçkahanede aşılandıktan sonra broyler çiftliğine 10.200 adet gönderildi ve 5. gün sürü içerisinde rastgele seçimi yapılmış 30 adet hayvandan trake sürüntüsü ile örnekledi. Aynı kuluçkahaneden IB aşısı uygulanmadan gönderilen diğer 10.400 adetlik sürüye ise 12. gün kümeste IB aşısı uygulandı. Uygulamadan sonraki 5. gün (17 günlük yaşta) sürü içerisindeki 30 adet hayvandan trake sürüntü örnekleri alındı. Her iki gruba da varyant 793B IBV ve H120 Mass suşu içeren iki canlı zayıflatılmış IBV aşısı uygulandı. Mass ve 793B aşılarının kombinasyonu ikili aşılama protokollerinden biri olduğu için seçilmiştir ve çeşitli varyantlara karşı bağışıklık sağlamaktadır [38], [39], [40].

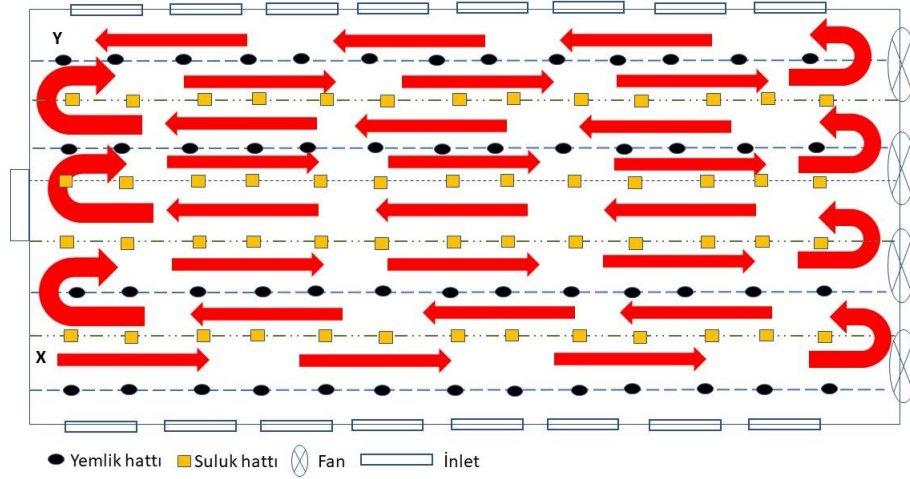
B. AŞILAMA

Kuluçkahanede 10.200 adet hayvan 90 adetlik civciv kasaları içerisinde sprey makinesi içerisinden geçirilerek aşılandı.

10.400 adetlik sürüye aşı uygulamasını sahada pulvizatör ile yapmak amacıyla aşı hazırlandı. 1.000 adet broyler başına 0.5lt spray aşı düşecek şekilde aşı suyu spray makinasına dolduruldu (Şekil 1.A). Aşı uygulaması sırasında hayvanların hareketlerinin kısıtlanması amacıyla ışıklar kapatıldı, spray damlacıklarının düzensiz dağılımını engellemek için fanlar ve soba motorları durduruldu (Şekil 1.B). Termal kamera ile çevre sıcaklığı gözlemlendi (Şekil 1.C). 70 metre uzunluk, 10 metre genişliğindeki kümes Şekil 2’de gösterildiği gibi yürüyüş hattı nizamında X noktasından başlayarak spray otomatik makinesi ile aşı suyunun 30-40 cm yükseklikten püskürtülmesi ile Y noktasına kadar aşılandı.



Şekil 1. (a) Aşının uygulanacağı pulvizatör ile aşı suyunun hazırlığı, (b) Kümes ışıkları ve fan motorlarının kapatılarak aşılanmanın yapılması, (c) Termal kamera ile çevre sıcaklığının takibinin yapılması.



Şekil 2. Spray aşılanma yapılan kümesin uygulama hattı (kırmızı ok yolu yönünde).

Şekil 2.’de kümes sağ iç girişinde aşılanmanın X noktasından başlayarak Y noktasına kadar ilerlemesinin temsili görüntüsü gösterilmiştir. Kümes sağ iç duvarı ve giriş kısmından başlanan aşılanma uygulaması sırasında spray makinesinin nozıl kısmı hayvanların 30-40 cm baş yüksekliğinden püskürtülerek ilerlenmiştir.

C. TRAKE SIVAP ÖRNEKLEME

Her iki grupta yer alan (10.200 ve 10.400 adet kapasiteli sürüler) 30'ar hayvandan mikrobrush sıvap kullanılarak numune alındı. Sıvaplar alındıktan sonra sıvap uçları kesilerek mikrotüplere alınarak kapatıldı ve soğuk zincir altında ekstraksiyona kadar -40°C'de saklandı.

C.1. Gerçek Zamanlı RT-PCR

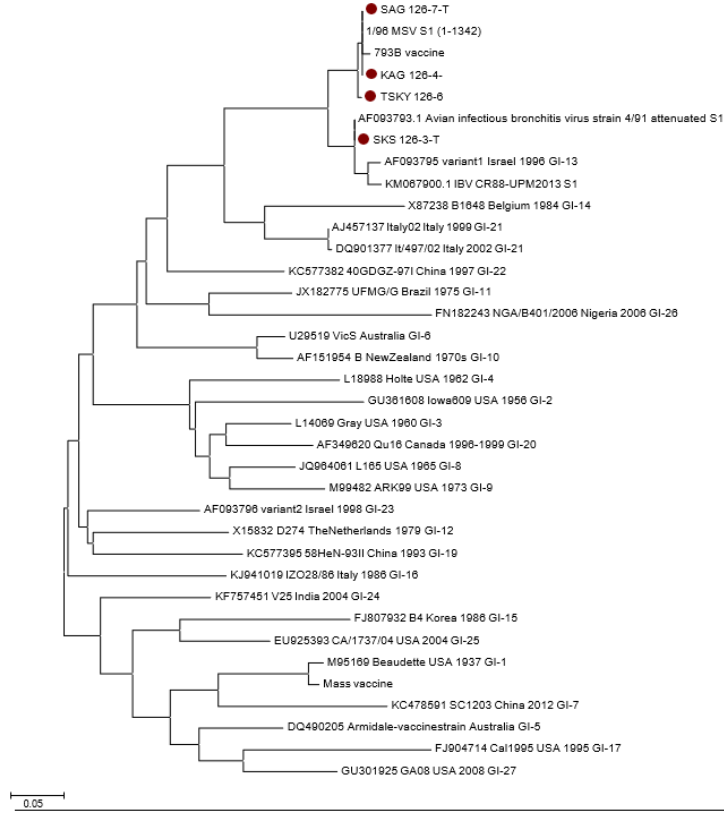
Her bir swab, 1,5 mL PBS içinde ayrı ayrı ayrıştırıldı ve viral RNA, yüksek saf RNA izolasyon kiti ile ekstrakte edildi. Önceden doğrulanmış gerçek zamanlı kantitatif RT-PCR (qRT-PCR) testi [30], 793B benzeri suşlar için titreleri değerlendirmek için kullanıldı. Test için standart eğriler, seri seyreltmelerin test edilmesiyle hazırlandı. Primerler ve proplar, hizalanmış referans dizilerinin değişken bölgeleri üzerinde tasarlanmıştır. İlgili titre aşısı virüsü olarak kayıt edilirken bu titrelerinin doğru bir şekilde ölçülmesine izin vermektedir. Testler Bio-Rad Thermal Cyclers Aleti (Bio Rad ,California, USA) üzerinde Taq DNA Polymerase enzimi barındıran Invitrogen One-Step qRT-PCR Kiti (Waltham, MA, ABD) kullanılarak yapıldı. Pozitif kontroller olarak (1/96 suşu) ve H120 suşu aşısının titre edilmiş dilüsyonları kullanıldı [41].

C.2. İstatistiksel Analiz

KAG ile SAG CT değerlerinin normal dağılımları Skewness ve Kurtosis testleri ile belirlendi. KAG ve SAG'dan alınan trake sürüntü örneklerinde yapılan RT-PCR analiz sonuçlarındaki CT değerleri one samples t-test ile karşılaştırılarak anlamlılık düzeyleri saptandı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi. Veriler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) ver. 22.0 paket program ile analiz edildi (IBMCorp., Chicago, IL, USA).

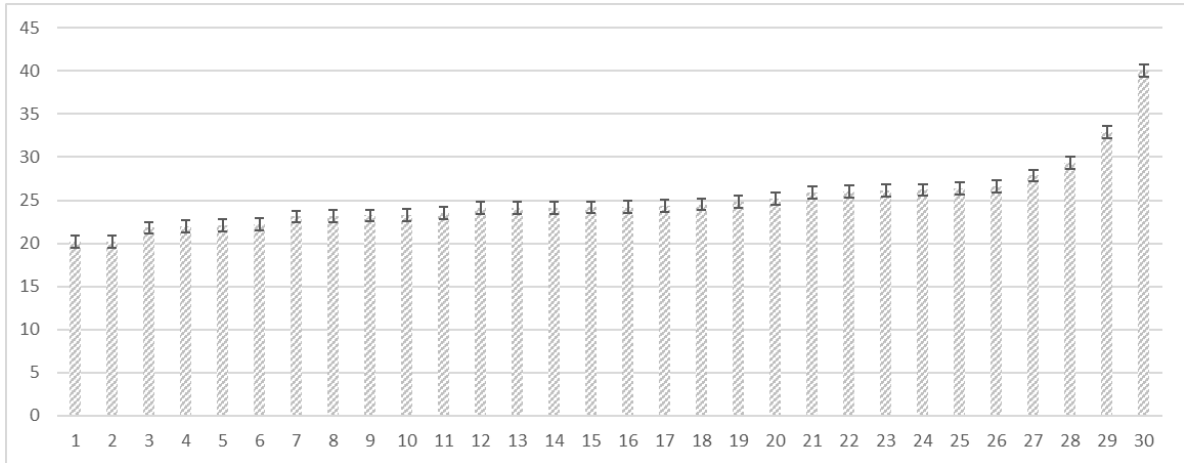
III. BULGULAR

Kuluçkahanede ve sahada aşılanan her iki sürünün hayvanlarından alınan 30'ar örnek RT-PCR analizi sonunda çevirim eşiği (CT) değerleri elde edilmiştir. 30 ve altındaki değerler pozitif, 30 üzerindeki değerler negatif kabul edildi. CT değeri IB virüsünün genetik materyalinin temin edilen numunelerdeki miktarını ifade eden çevirim eşiğidir. Virüs yükü ile CT değeri birbiri ile ters orantılıdır. Kanatlı hayvanların viral hastalıklarında 30 ve üzerindeki CT değerleri marazi maddenin viral yükünün zayıf veya negatif olduğunu ifade etmektedir [42]. Enfeksiyöz bronşit virüsünün S1 geni 705-1097 bp aralığında bulunan sekanslarına ait bulgular SAG ve KAG gruplarında yer alan virüslerin aşuya ait olduklarını göstermektedir (Şekil 3).

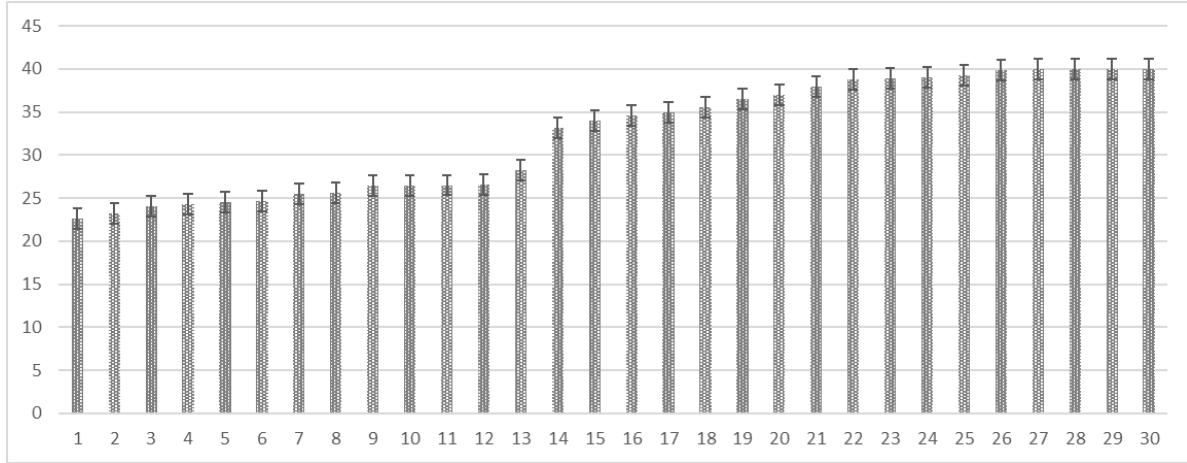


Şekil 3. SAG ve KAG gruplarının yer aldığı IBV S1 geni 705-1097 bp aralığı sekansları.

Şekil 4'de kuluçkadaki aşı uygulama sonrasında sürüden alınan trake sürüntü örneklerindeki virüs yüküne bağlı olarak değişen miktarlardaki CT değerleri gösterilmiştir.

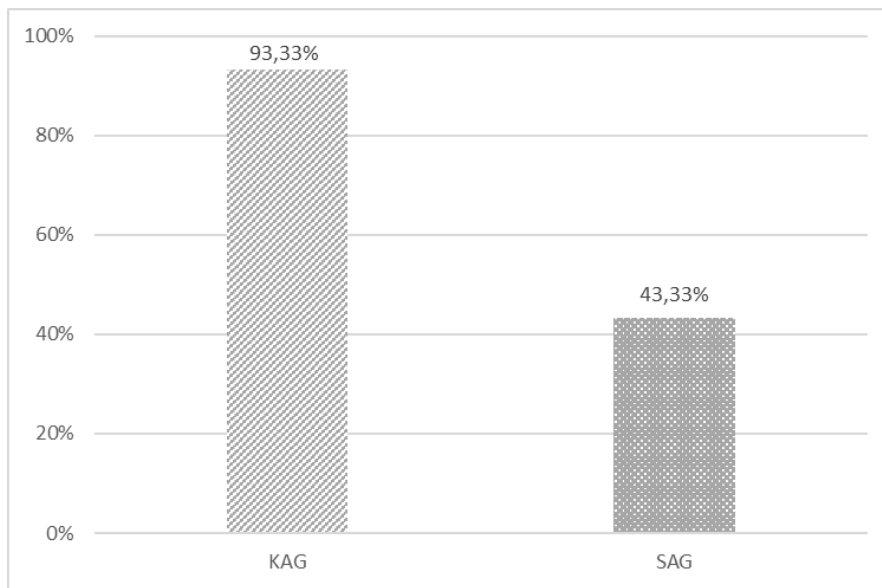


Şekil 4. KAG (30 örnek) grubu trake sürüntüleri bireylerin RT-PCR çevirim eşiği (CT) değerleri.



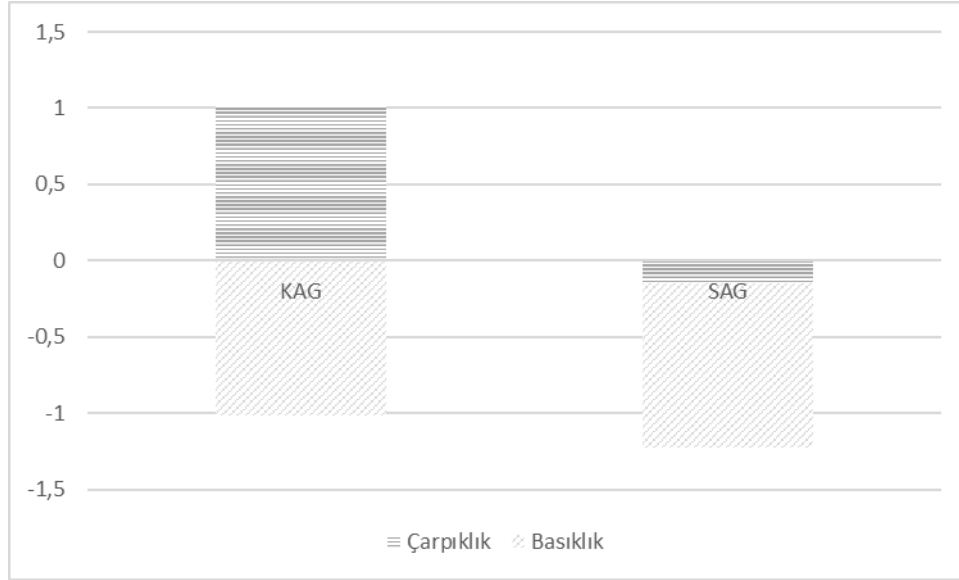
Şekil 5. SAG (30 örnek) grubu trake sürüntüleri bireylerin RT-PCR çevirim eşiği (CT) değerleri.

Aşılama sonrasında beklenen virüs yoğunluğu veya çevirim eşiği 30 ve altında beklenmektedir. Şekil 5 IBV'ye karşı sürüye sahada uygulanan aşılamadan sonra alınan trake sürüntü örneklerindeki CT değerlerini ifade etmektedir. Tespit edilen viral genomun sekans analizi aşı virüsünün filogenetik ağaçta 793B ile komşu olduğu tespit edilmiştir [43]. Kuluçkahane aşılama grubunda (KAG) yer alan hayvanların sürüntü numunelerinde %93,3'ü 793B suşu için pozitif tespit edildi. Kümes sahasında aşılama grubunun (SAG) trake sürüntü numunelerinin %43,3'ü 793B suşu için pozitif tespit edildi (Şekil 6). KAG örneklerinin CT verileri normallik test sonuçlarına göre çarpıklık 1,01 ve basıklık -1,012, kümede aşılama grubunun numunelerinde CT verilerinin normallik test sonuçları ise çarpıklık -0,149 ve basıklık -1,073 olarak saptandı (Şekil 7). Elde edilen bulgulara göre veriler normal dağılım göstermektedir [44]. CT 30 ve altındaki değerlerin pozitif, üzerindeki değerlerin ise negatiftir. Buna göre yapılan one sample t-test sonuçları 30 değerine göre sabitlenen kuluçkahane aşılama grubunun CT değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$), (Tablo 1), [45]. Buna karşılık SAG CT değerlerinin ise belirlenen 30 değerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Kuluçka aşılama sonrası çiftliğe gönderilen sürüde 3 gün sonrasında başlayarak 5. günün sonunda azalan günlük takibi ile alınan kayıtlarda aksırık semptomları gözlemlenmiştir. Aşı virüsünün replikasyonuna bağlı olarak gelişen bu reaksiyonun zamanla kaybolduğu tespit edilmiştir.



Şekil 6. KAG (30 örnek) ve SAG (30 örnek) grubu trake sürüntüleri RT-PCR pozitiflik yüzdesi.

Şekil 7.'de kuluçkahane aşılama grubu ve saha aşılama grubunda yer alan hayvanlardan alınan trake sürüntü örneklerinin RT-PCR CT pozitiflik yüzdesi ifade edilmiştir. Kuluçka aşılama grubunda saha aşılama grubuna göre 2 katın üzerinde aşı alımı tespit edilmiştir.



Şekil 7. KAG ve SAG grubu trake sürüntüleri RT-PCR CT Çarpıklık ve basıklık değerleri.

Şekil 7.'de kuluçkahane aşılama grubu ve saha aşılama grubunda yer alan hayvanlardan alınan trake sürüntü örneklerinin RT-PCR CT değerlerine ilişkin çarpıklık ve basıklık değerleri ifade edilmiştir.

Tablo 1. KAG ve SAG grubu trake sürüntü örneklerinin RT-PCR CT değerleri istatistiksel farkı.

One-Sample Test						
Test Value = 30						
	t	df	Sig.(2 tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
KAG	-7,087	29	0,000	-4,94500	-6,3721	-3,5179
SAG	1,900	29	0,067	2,27333	-0,1736	4,7203

Tablo 1.'de KAG ve SAG grubu hayvanlarından alınan trake sürüntü numunelerinin RT-PCR CT değerleri için One Sample t-test ile karşılaştırılması gösterilmiştir. Trake sürüntülerindeki virüs genetik materyaline ait tespiti içeren RT-PCR test pozitiflik üst baremini ifade eden değer $CT < 30$ olarak belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre KAG trake sürüntü örnekleri SAG sürüntü örneklerine göre aşı alımı yönünden istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0,05$).

IV. TARTIŞMA

Aşı uygulama kalitesi broylerlerde hastalıklar ile mücadelede en önemli etkenlerdir. Çiftliklerde biyogüvenlik tedbirlerinin optimum düzeyde tutulması bulaşma kaynaklarının azalmasına neden olmaktadır [46]. IB hastalığında bölgenin risk altında olduğu durumlarda aşılamanın önemi artar. Bu çalışma kuluçkahane değişkenliklerin daha iyi kontrol edilebildiğini, saha uygulamalarının ise aşı alım değerlerini etkilediğini ortaya koymaktadır. Kuluçkahane uygulamaları ise kitlesel aşılama sonucunda üniform bağışıklık oluşmasında önem arz etmektedir. Broiler civcivleri kasalara koyularak sprey aşı makinelerine iletilmektedir. Alanında uzman bireyler burada kitlesel sprey uygulaması kısa süre içerisinde en az stres riski oluşturacak şekilde uygulanmaktadır [47]. Buna karşılık saha aşılama çalışmalarında aşı hazırlığı ve uygulama safhasında gelişen hatalar aşı damlacıklarının homojen dağılımının önüne geçmektedir. 2. haftanın içerisinde uygulanan aşı için kümes bölmeleri açılmadan mümkün olduğunca en dar alanda uygulama gerçekleştirilmelidir. Aksi durumda sprey damlacıkları hayvanlar yerine altlığa düşmektedir. Bu nedenle aşı alımlarında azalma gelişmektedir. Sprey uygulaması veya aerosol, canlı atenüe aşılama etlik piliç sürülerine, genellikle sürülerin barındırıldığı ilk iki hafta içinde uygulamak için kullanılan yaygın bir yöntemdir [48]. Bu öncelikle solunum yollarında çoğalan aşılama verilmeli için ideal bir tekniktir [49]. Başarılı bir saha aşılama uygun aşı kullanımı ve stresinin en aza indirilmesi ile mümkün olmaktadır. Modern broiler üretimi açısından değerlendirildiğinde inovo uygulamaları ile günümüzde artık aşılama embriyolu yumurtaya uygulanacağı gibi aşılarda daha teknolojik şartlarda hayvanlara ulaştırılması kaçınılmazdır [50].

Saha aşılama çalışmalarında gerçekleştirilen olası hatalar aşılama hayvanlar ile buluşmasını engellemektedir. Personel yürüyüş hızının uygun olmaması, kümes alanının geniş olması, kümes ısısının yüksek olması gibi faktörler sprey damlacıklarının hayvanlardaki etkinliğini azaltmaktadır. Dolayısıyla uygulama sırasında damlacıkların hayvanların göz ve burun boşluklarına isabet etmesi durumunda düzenli bir aşılama gerçekleştirilmektedir. İkili IB aşılama heterolog koruma örneği göstererek saha suşlarına karşı bağışıklık oluşturduğu yayınlarda rapor edilmiştir [10],[51],[52].

Bu çalışma saha sprey aşılama çalışmalarında elde edilen koruma düzeyinin aşı alımına bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu ilişki ise uygulama kalitesinin düzeyi ile doğru orantılıdır. Ancak kuluçkahane aşı uygulamalarında bu durumun ortaya çıkmaması gelecekte oluşacak üretim maliyetini azaltabilir. Kuluçkahane aşılama grubunda aşı alım değerlerinin saha aşılama grubuna göre anlamlı kaydedilmesi kitlesel aşılamanın üniform yapısının önemini artırmaktadır. Yapılan çalışmalar kuluçkahane de uygulanan aşılama hayvanlarda oluşturduğu bağışıklık yanıtının daha yüksek olduğu göstermektedir. Saha sprey aşılama çalışmalarının büyük çoğunluğunun hayvanlara ulaştırılmadan altlığa dökülmesi ekonomik kayıpları beraberinde getirmektedir. Ayrıca aşı alımındaki azalmaya bağlı olarak olası saha virüsü bulaşmalarında savunma sistemi gelişmeyen hayvanlar etkilenebilir.

V. SONUÇ VE ÖNERİLER

793B ve Mass kombinasyonu heterojen bir koruma spektrumunu hedef aldığı için en yaygın olarak uygulanan IBV aşılama protokollerinden birini temsil etmektedir. Ancak bu uygulama tercihi virüsün daha az dolaşımında olduğu ve bölgesel hastalık risklerinin daha az olduğu kesimlerde farklı bir koruma stratejisini gerektirebilir [53]. Çalışmada yer alan bölge IB risklerinin uzun dönemler boyunca yüksek seyrettiği alanlarda bulunmaktadır. Deneysel koşullarda yürütülen çalışmalar saha şartlarındaki değişkenleri tam anlamıyla taşımamaktadır. Bu nedenle saha koşullarında gerçekleştirilen uygulamaların optimum doğruluğu işletmelerde çalışan personellerin özverisine bağlıdır [54]. Buna karşın kitlesel aşılama çalışmalarında aşı makineleri ile doğru dozlarda hayvanlara ulaştırılabileceği en iyi ortam kuluçka birimleridir. Saha aşılama çalışmalarında aşılama çiftliğe nakillerinden başlayarak aşı uygulama anına kadar geçen süredeki soğuk zincirin korunması zor olabilir. Ayrıca aşı uygulama öncesinde kümesin dış ortama bağlı olarak uygun sıcaklığa getirilmesi yaz mevsimindeki bir diğer zorluk olarak sayılabilir. Sıcaklığın düşürülemediği durumlarda uygulamanın hızına bağlı olarak bekleyen hayvanlarda

potansiyel stres yüklenmesi ileriki günlerdeki yaşında sürünün gelişiminde olumsuz etki oluşturabilir. Bu bağlamda kuluçkada belirlenen sabit ısının kasalardaki hayvanları etkilemeden uygulamadan hemen sonra çiftliklere gönderilmesi bu olumsuz durumdan kaçınmayı sağlayacaktır [55]. Ayrıca SAG uygulamalarında sprey makine ekipmanının nozul damlacık boyutu yürüyüş hızına ve kümes ısısına bağlı olarak değişken sürelerde hayvanların üzerine düşmesi ile bazı hayvanların aşıya erişimini güçleştirebilir. Sürünün bulunduğu alanın uzunluğu önceden hesaplanarak dakikadaki sıvı atım hacmi hesaplanmalıdır ve uygulama öncesi simülasyonları yapılmalıdır. Hayvanların uygulama öncesinde yeterince birbirlerine yaklaştırılması püskürtülen aşıya ulaşmayı artıracak gibi tam aksi durumda aşı damlacıkları altlığa geçecektir. İki personelin uygulamayı yaptığı durumlarda senkron yürüyüş hızı ayarlanmalıdır ve aynı zamanda başlanılan noktada uygulama bitirilmelidir. Aşı uygulamasının sahada geliştirdiği birçok değişkenin kuluçkada daha kontrol edilebilir hale getirildiği bu çalışma ile ortaya koyulmuştur. Kuluçka aşılama grubunda yer alan hayvanlar optimum şartlar sağlanarak aşı alımları neticelendirilmiştir. Düzenlenen koşullar altında hayvan refahına uygun bir zemin oluşturulmuş ve potansiyel stresin oluşturacağı yan etkiler elimine edilmiştir. Bu çalışma potansiyel saha IBV virüsüne karşı bağışıklık oluşturulan hayvanların hangi koşullarda aşılama gerektğine dair anlamlı sonuçlar elde etmemize imkan tanımıştır. Gelecek çalışmalar yumurtaya uygulanan aşılama hem saha hem de kuluçkahane uygulamalarına göre farklarını ortaya koyarak elde edilecek bilgiler literatüre ışık tutabilir.

VI. KAYNAKLAR

- [1] J. J. S. de Wit and J. K. A. Cook, “Spotlight on avian coronaviruses,” *Avian Pathol*, vol. 49, no. 4, pp. 313-316, 2020.
- [2] M.A. Rohaim, R.F. El Naggar, M. M. Hamoud, A. I. Bazid, A. M. Gamal, S. E. Laban, M. A. Abdel-Sabour, S.A.E. Nasr, M.M. Zaki, M.Z. Shabbir, O.K. Zahran and M. Munir, “Emergence and genetic analysis of variant pathogenic 4/91 (serotype 793/B) infectious bronchitis virus in Egypt during 2019,” *Virus Genes*, vol. 55, no.5, pp. 720-725, 2019.
- [3] I. Moharam, H. Sultan, K. Hassan, M. Ibrahim, S. Shany, A. A. Shehata, M. Abo-EIKhair, F. Pfaff, D. Höper, M. El Kady, M. Beer, T. Harder, H. Hafez and C. Grund, “Emerging infectious bronchitis virus (IBV) in Egypt: Evidence for an evolutionary advantage of a new S1 variant with a unique gene 3ab constellation,” *Infect Genet Evol*, pp. 104433, 2020.
- [4] J. Ignjatović and S. Sapats, “Avian infectious bronchitis virüs,” *Rev Sci Tech*, vol.19, no. 2, pp. 493-508, 2000.
- [5] I. I. Hasan, S. T. Rasheed, N. A. Jasim and M. K. Shakor, “Pathological effect of infectious bronchitis disease virus on broiler chicken trachea and kidney tissues,” *Vet World*, vol.13, no.10, pp. 2203-2208, 2020.
- [6] A. Mueller Slay, M. Franca, M. Jackwood and B. Jordan, “Infection with IBV DMV/1639 at a young age leads to increased incidence of cystic oviduct formation associated with false layer syndrome,” *Viruses*, vol.14, no. 5), pp. 852, 2022.
- [7] L. P. Colvero, L.Y. Villarreal, C. A. Torres and P. E. Brañdo, “Assessing the economic burden of avian infectious bronchitis on poultry farms in Brazil,” *Rev Sci Tech*, vol. 34, no. 3, pp. 993-9, 2015.
- [8] J. S. Guy, “Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: a review,” *Avian Pathol*, vol. 29, no. 3, pp. 207-12, 2000.
- [9] C. C. Loa, T. L. LinL, C. C. Wu, T. A. Bryan, T. A. Hooper and D. L. Schrader, “Differential detection of turkey coronavirus, infectious bronchitis virus, and bovine coronavirus by a multiplex polymerase chain reaction,” *J Virol Methods*, vol. 131, no. 1, pp. 86-91, 2006.

- [10] F. Awad, S. Hutton, A. Forrester, M. Baylis and K. Ganapathy, “Heterologous live infectious bronchitis virus vaccination in day-old commercial broiler chicks: clinical signs, ciliary health, immune responses and protection against variant infectious bronchitis viruses,” *Avian Pathol*, vol. 45, no. 2, pp. 169-77, 2016.
- [11] J. J. De Wit, W. A. Swart and T. H. Fabri, “Efficacy of infectious bronchitis virus vaccinations in the field: association between the alpha-IBV IgM response, protection and vaccine application parameters,” *Avian Pathol*, vol. 39, no. 2, pp. 123-31, 2010.
- [12] M. G. Matthijs, J. H. van Eck, J. J. de Wit, A. Bouma and J. A. Stegeman, “Effect of IBV-H120 vaccination in broilers on colibacillosis susceptibility after infection with a virulent Massachusetts-type IBV strain,” *Avian Dis*, vol. 49, no. 4, pp. 540-5, 2005.
- [13] M.W. Jackwood, “Review of infectious bronchitis virus around the world,” *Avian Dis*, vol. 56, no. 4, pp. 634-41, 2012.
- [14] L. Y. Villarreal, P.E. Brandão, J. L. Chacón, A. B. Saidenberg, M. S. Assayag, R. C. Jones and A. J. Ferreira, “Molecular characterization of infectious bronchitis virus strains isolated from the enteric contents of Brazilian laying hens and broilers,” *Avian Dis*, Dec; vol. 51, no. 4, pp. 974-8, 2007.
- [15] J. Miłek and K. Blicharz-Domańska, “Coronaviruses in avian species - review with focus on epidemiology and diagnosis in wild birds,” *J Vet Res*, vol. 62, no. 3, pp. 249-255, 2018.
- [16] M. Smialek, B. Tykalowski, D. Dziewulska, T. Stenzel and A. Koncicki, “Immunological aspects of the efficiency of protectotype vaccination strategy against chicken infectious bronchitis,” *BMC Vet Res*, vol. 13, no. 1, pp. 44, 2017.
- [17] L. Kutle, L. Ljuma Skupnjak, A. Vrdoljak, D. Janković, G. J. Boelm, F. Kelemen, O. Zorman Rojs and J. Millecam, “Efficacy of infectious bronchitis GI-13 (793B) vaccine candidate tested according to the current European union requirements and for cross-protection against heterologous QX-like challenge,” *Viral Immunol*, vol. 33, no. 8, pp. 555-564, 2020.
- [18] M. Legnardi, G. Franzo, K. C. Koutoulis, M. Wiśniewski, E. Catelli, C. M. Tucciarone and M. Cecchinato, “Vaccine or field strains: the jigsaw pattern of infectious bronchitis virus molecular epidemiology in Poland,” *Poult Sci*, vol. 98, no. 12, pp. 6388-6392, 2019.
- [19] M. Śmiałek, J. Kowalczyk and J. Koncicki, “A Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine on general properties of *E. coli* population, IBV vaccination efficiency, and production parameters-a field experiment,” *Poult Sci*, no. 11, pp. 5452-5460, 2020.
- [20] M. Legnardi, H. Baranyay, C. Simon, J. Molnár, T. Bijlsma, M. Cecchinato, A. Gáspárdy, A. Bersényi, C. M. Tucciarone, G. Franzo and L. Kőrösi, “Infectious bronchitis hatchery vaccination: comparison between traditional spray administration and a newly developed gel delivery system in field conditions,” *Vet Sci*, vol. 8, no. 8, pp. 145, 2021.
- [21] S. S. Chandrasekar, B. Kingstad-Bakke, C.W. Wu, M. Suresh and A. M. Talaat, “A Novel mucosal adjuvant system for immunization against avian coronavirus causing infectious bronchitis,” *J Virol*, vol. 94, no. 19, pp. e01016-20, 2020.
- [22] S. P. Mondal and S. A. Naqi, “Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine,” *Vet Immunol Immunopathol*, vol. 79, no.2, pp. 31-40, 2001.

- [23] C. F. Crouch CF, S. J. Andrews, R. G. Ward and M. J. Francis, “Protective efficacy of a live attenuated anti-coccidial vaccine administered to 1-day-old chickens,” *Avian Pathol*, vol. 32, no. 3, pp. 297-304, 2003.
- [24] M. E. Sedeik, N. A. El-Shall, A. M. Awad, M. E. Abd El-Hack, A. N. Alowaimier and A. A. Swelum, “Comparative Evaluation of HVT-IBD Vector, Immune complex, and Live IBD vaccines against vvIBDV in commercial broiler chickens with high maternally derived antibodies,” *Animals (Basel)*, Vol. 9, no. 3, pp. 72, 2019.
- [25] M. S. A. Bhuiyan, Z. Amin, A. M. S. A. Bakar, S. Saallah, N. H. M. Yusuf, S. M. Shaarani and S. Siddiquee, “Factor influences for diagnosis and vaccination of avian infectious bronchitis virus (Gammacoronavirus) in chickens,” *Vet Sci*, vol. 8, no. 3, pp. 47, 2021.
- [26] R. F. Gentry and M.O. Braune, “Prevention of virus inactivation during drinking water vaccination of poultry,” *Poult Sci*, vol. 51, no. 4, pp. 1450-6, 1972.
- [27] T. H. Lim, H. N. Youn, S. S. Yuk, J. H. Kwon, W. T. Hong, G. B. Gwon, J. A. Lee, J. B. Lee, S. W. Lee and C. S. Song, “Successful cross-protective efficacy induced by heat-adapted live attenuated nephropathogenic infectious bronchitis virus derived from a natural recombinant strain,” *Vaccine*, vol. 33, no. 51, pp. 7370-7374, 2015.
- [28] Y. Zhang, S. Huang, Y. Zeng, C. Xue and Y. Cao, “Rapid development and evaluation of a live-attenuated QX-like infectious bronchitis virus vaccine,” *Vaccine*, vol. 36, no. 29, pp. 4245-4254, 2018.
- [29] M. Al-Rasheed, C. Ball and K. Ganapathy, “Route of infectious bronchitis virus vaccination determines the type and magnitude of immune responses in table egg laying hens,” *Vet Res*, vol. 52, no. 1, pp.139, 2021.
- [30] F. Bande, S. S. Arshad, A. R. Omar, M. H. Bejo, M. S. Abubakar and Y. Abba, “Pathogenesis and diagnostic approaches of avian infectious bronchitis,” *Adv Virol*, pp. 4621659, 2016.
- [31] F. Saiada, F. Eldemery, R. A. Zegpi, S. L. Gulley, A. Mishra, V. L. V. Santen and H. Toro, “Early vaccination of chickens induces suboptimal immunity against infectious bronchitis virus,” *Avian Dis*, vol. 63, no. 1, pp. 38-47, 2019.
- [32] R. Chhabra, A. Forrester, S. Lemiere, F. Awad, J. Chantrey and K. Ganapathy, “Mucosal, cellular, and humoral immune responses induced by different live infectious bronchitis virus vaccination regimes and protection conferred against infectious bronchitis virus Q1 strain,” *Clin Vaccine Immunol*, vol. 22, no. 9, pp. 1050-9, 2015.
- [33] T. Al-Jallad, M. Kassouha, M. Salhab, A. Alomar, M. Al-Masalma and F. Abdelaziz, “Molecular characterization of isolated infectious bronchitis viruses from affected vaccinated broiler flocks in Syria,” *BMC Vet Res*, vol. 16, no. 1, pp. 449, 2020.
- [34] S. A. Callison, D. A. Hilt, T.O. Boynton, B.F. Sample, R. Robison, D.E. Swayne and M.W. Jackwood, “Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens,” *J Virol Methods*, vol.138, no. 2, pp. 60-5, 2006.
- [35] S. A. Callison, D.A. Hilt, T.O. Boynton, B.F. Sample, R. Robison, D. E. Swayne and M. W. Jackwood, “Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens,” *J Virol Methods*, vol.138, no. 2, pp. 60-5, 2006.

- [36] R. Meir, O. Maharat, Y. Farnushi and L. Simanov, “Development of a real-time TaqMan RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus in chickens, and comparison of RT-PCR and virus isolation,” *J Virol Methods*, vol.163, no. 2, pp.190-4, 2010.
- [37] H. J. Roh, D.A. Hilt and M.W. Jackwood, “Detection of infectious bronchitis virus with the use of real-time quantitative reverse transcriptase-PCR and correlation with virus detection in embryonated eggs,” *Avian Dis*, vol. 58, no. 3, pp. 398-403, 2014.
- [38] M.W. Jackwood, R. Clark, S. Cheng and B. J. Jordan, “Protection following simultaneous vaccination with three or four different attenuated live vaccine types against infectious bronchitis virus,” *Avian Pathol*, vol. 49, no. 4, pp.335-341, 2020.
- [39] F. Awad, S. Hutton, A. Forrester and M. Baylis, K. Ganapathy, “Heterologous live infectious bronchitis virus vaccination in day-old commercial broiler chicks: clinical signs, ciliary health, immune responses and protection against variant infectious bronchitis viruses,” *Avian Pathol*, vol. 45, no. 2, pp. 169-77, 2016.
- [40] B. al-Tarcha and S. A. Sadoon, “Cross-protection studies with vaccine strain H-120 of infectious bronchitis virus using ciliary activity,” *Acta Vet Hung*, vol. 39, no. 2, pp. 95-101, 1991.
- [41] M. Jahantigh, S. Salari and M. Hedayati, “Detection of infectious bronchitis virus serotypes by reverse transcription polymerase chain reaction in broiler chickens,” *Springerplus*, vol. 2, no.1, pp. 36, 2013.
- [42] Z. H. Bhuiyan, M. Z. Ali, M. M. Moula, M. Giasuddin, Z. U. M. Khan, “Prevalence and molecular characterization of infectious bronchitis virus isolated from chicken in Bangladesh,” *Vet World*, vol,12, no. 6, pp. 909-915, 2019.
- [43] G. Franzo, C. J. Naylor, C. Lupini, M. Drigo, E. Catelli, V. Listorti, P. Pesente, D. Giovanardi, E. Morandini and M. Cecchinato, “Continued use of IBV 793B vaccine needs reassessment after its withdrawal led to the genotype's disappearance,” *Vaccine*, vol. 32, no. 50, pp. 6765-7, 2014.
- [44] B. G. Tabachnick and S. F. Linda, *Using Multivariate Statistics*, Nobel Akademik Yayıncılık, 2015.
- [45] J. Gelb Jr, B. S. Ladman, M. J. Licata, M. H. Shapiro and L. R. Campion, “Evaluating viral interference between infectious bronchitis virus and Newcastle disease virus vaccine strains using quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction,” *Avian Dis*, vol.51, no. 4, pp. 924-34, 2007.
- [46] H. Ghobadian Diali, H. Hosseini, M.H. Fallah Mehrabadi and R. Yahyaraeyat, “Ghalyanchilangeroudi A Evaluation of viral load and transcriptome changes in tracheal tissue of two hybrids of commercial broiler chickens infected with avian infectious bronchitis virus: a comparative study,” *Arch Virol*, vol.167, no.2, pp. 377-391, 2022.
- [47] R. Ravikumar, J. Chan and M. Prabakaran, “Vaccines against Major Poultry Viral Diseases: Strategies to Improve the Breadth and Protective Efficacy,” *Viruses*, vol.14, no.6, pp.1195, 2022.
- [48] S. M. Ray, U. Ashash and S. Muthukumar, “A field study on the evaluation of day-of-hatch and in grow-out application of live infectious bursal disease virus vaccine in broiler chickens,” *Poult Sci*, vol.100, no.8, pp.101252, 2021.
- [49] P. Villegas , “Viral diseases of the respiratory system,” *Poult Sci*, vol.77, no.8, pp.1143-5, 1998.

- [50] T. Okura, H. Otomo, S. Suzuki, Y. Ono, A. Taneno and E. Oishi, "Efficacy of a novel in ovo-attenuated live vaccine and recombinant vaccine against a very virulent infectious bursal disease virus in chickens," *J Vet Med Sci*, vol.83, no.11, pp.1686-1693, 2021.
- [51] M.W. Jackwood, D.A. Hilt, A.W. McCall, C.N. Polizzi, E.T. McKinley and S.M. Williams, "Infectious bronchitis virus field vaccination coverage and persistence of Arkansas-type viruses in commercial broilers," *Avian Dis*, vol.53, no.2, pp.175-83, 2009.
- [52] H. Toro, V. L. van Santen, A. M. Ghetas and K. S. Joiner, "Cross-Protection by Infectious Bronchitis Viruses Under Controlled Experimental Conditions," *Avian Dis.*, vol.59, no.4, pp.532-6, 2015.
- [53] Ö.Kardoğan, "Coronavirus and Infectious Bronchitis vaccines in chickens," *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, vol.33, no.1, pp. 110-117, 2022.
- [54] M.Akan, M.İzgür, B.Sarayyüpoğlu, "Tavuklarda infeksiyöz bronşitisin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve floresan antikor tekniği (FAT) ile teşhisi," *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, Vol.54, no:1, 47-54, 2007.
- [55] N. Timurkaan, H.Öngör, H.Kalender, B.Karabulut, F. Çöven, A. Çevik, H. Eröksüz and B. Çetinkaya, "Pathological and molecular findings of visceral gout caused by Israel variant 2 (IS/1494/06) genotype of infectious bronchitis virus in chickens," *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, vol.70 no:2,43-57, 2023.