

# 1. GİRİŞ

Kanatlı bordetellozisi (hindi korizası) özellikle genç hindilerin düşük mortalite ve yüksek morbidite ile karakterize; okulonasal akıntı, aksırık, solunum güçlüğü, trakeal kollaps ve ağırlık kaybı gibi klinik semptomlar ile seyreden oldukça bulaşıcı bir üst solunum sistemi hastalığıdır.

Hastalık etkeni olan *Bordetella avium*, Gram negatif, 0,2-0,5 x 0,5-1 µm boyutlarında, çomak ya da kokobasil şeklinde, peritrik flagellalı, hareketli kapsüllü, aerobik, nonfermentatif, nonhemolitik, oksidaz ve katalaz pozitif bir mikroorganizmadır. Oronasal mukozanın silialı hücrelerine yapışan bakteriler ilerleyerek bir haftada trakeanın üst kısmında ve primer bronşlarda kolonize olurlar. Bakteriler burada çoğalarak trakea mukozasında akut yangı, epitelyumlarda silia kaybı, trakea halka yapısında bozulma sonrasında hapşırma, tıksırma ve burun tıkanıklığı meydana getirirler. Ticari hindiler hastalığa karşı oldukça duyarlıdırlar.

*Bordetella* cinsinin üyelerinin, omurgalı canlılarda solunum sistemi hastalıkları meydana getirdikleri ve siliumlu epitellere kolonize olma kapasitesine sahip oldukları bilinmektedir. İnsanlarda *Bordetella pertussis*'in neden olduğu boğmaca hastalığı ile hindilerin bordetellozisinin benzerliklerine rağmen; *B. avium*'un insanlarda kolonize olduğuna veya hastalık yaptığına ilişkin bir kanıt günümüze kadar bulunamamıştır.

*B. avium*'un doğal konakçıları hindilerdir, ancak etken tavuk, ördek ve kaz gibi diğer kanatlı hayvanlardan da izole edilmiştir. *B. avium*'un neden olduğu solunum sistemi sendromu papağan ve devekuşunda da bildirilmiştir. Enfeksiyon çok bulaşıcıdır ve sekonder bakteriyel hastalıklara zemin hazırlar. Etkenin kontamine olmuş kümes ve barınaklardan elimine edilmesi oldukça zordur. Suluklarda yaklaşık beş ay canlılığını koruyabilir ve üreyebilir. *B. avium* ile infekte olmuş bir sürüden hastalığın tamamıyla eradike edilmesi mümkün değildir. Yapılan çalışmalar hastalığa yakalanıp tedavi edilen hayvanlardan etkenin tekrar kolaylıkla izole edilebildiğini göstermiştir.

Bordetellozis'in tanısı klinik bulgular, etkenin solunum yollarında meydana getirmiş olduğu lezyonlar, üst solunum yollarından etkenin izolasyonu ve serolojik

testler ile konulur. Etken izolasyonu zaman alıcıdır ve saha koşullarında pratik değildir. Doğal ve deneysel infeksiyonlarda *B. avium*'a karşı gelişen antikorların saptanmasında serolojik testlerden sıkça yararlanılmaktadır. Bu amaçla en çok kullanılan testler Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT) ve Mikroaglutinasyon Test (MAT)'leridir. MAT'nin bakteriyel izolasyon ile yüksek korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur. ELISA oldukça güvenilir bir teşhis yöntemidir ve pek çok laboratuarda referans test olarak *B. avium*'a karşı oluşan antikorların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ancak ELISA kitlerinin fiyatının yüksek olması kitin kullanılabilirliği açısından önemli bir dezavantajdır. Bununla birlikte henüz ticari olarak *B. avium* Lam Aglutinasyon Test (LAT) antijeni geliştirilmemiştir.

Hindilerde solunum sistemi problemleri özellikle havalarda soğumaya başladığı dönemlerde etkili olup, büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Solunum sistemi patojenlerinin kısa sürede teşhis edilmesi ve buna yönelik tedaviye en kısa sürede başlanması ekonomik kayıpların önlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu nedenlerden dolayı yapılan araştırmanın amaçları:

1. Saha koşullarında pratik olarak kullanılacak LAT antijenin hazırlanması;
2. Laboratuvar koşullarında uygulanabilecek MAT antijenin hazırlanması ve MAT'nin standardizasyonu;
3. Ticari ELISA kiti ile LAT ve MAT'nin duyarlılıklarının karşılaştırılmasıdır.

## 2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bordetellozis kanatlılarda *Bordetella avium*'un sebep olduğu üst solunum sisteminin çok bulaşıcı bir hastalığıdır. Hastalık yaygın bir şekilde hindi korizasası olarak bilinmekle birlikte; genel olarak kullanılan diğer sinonimleri *Alcaligenes rhinotracheitisi* (ART), adenovirusla ilişkili respiratorik hastalık, akut respiratorik hastalık sendromu, *Bordetella avium* rhinotracheitis (BART) ve Hindi Rhinotracheitis' idir (Simmons ve ark, 1986).

Hastalığın etkeni olan *B. avium* silia epitellerine yerleşerek solunum yolu mukozasında yangıya sebep olur. Ticari hindiler hastalığa karşı oldukça hassastırlar (Simmons ve ark., 1986). Genç hindilerde şiddetli tıksırıkla birlikte burun ve göz akıntısı, solunum güçlüğü, submandibular ödem, hırıltı, trakeal kollaps, gelişme geriliği ve diğer infeksiyonlara karşı predizpozisyon şekillenir. Hastalığa yakalanan hindiler özellikle *Escherichia coli* infeksiyonu gibi sekonder bakteriyel infeksiyonlara duyarlı olurlar (Barnes ve Hofstad, 1983; Hinz ve ark., 1983; Simmons ve ark., 1986). Hinz ve ark. (1978), hindilerde *B. avium* infeksiyonunun *Chlamydia psittaci* ile birlikte seyrettiğini bildirmişlerdir. İnfeksiyona yakalanan hindilerde mortalite % 7-20 arasında seyrederken; hayvanların *Klebsiella pneumonia*, *E. coli* ve *Pseudomonas fluorescens* gibi sekonder bakteriyel etkenlere maruz kalması ile mortalitenin % 90 morbiditenin de % 100'e ulaştığı tesbit edilmiştir. Bildirilen hastalık olgularından *B. avium* dışında *Mycoplasma gallisepticum* ve *Newcastle* hastalığı virusunun lentojenik ve mezojenik suşları da izole edilmiştir (Pardue ve Luginbuhl, 1998).

*B. avium* hindilerde ve tavuklarda ekonomik önemi olan bir etkindir. Tavuklarda mikroorganizmanın, özellikle broylerlerde aşılamalardan sonra, orta dereceli solunum sistemi infeksiyonu oluşturduğu bildirilmiştir (Domingo ve ark., 1992). *B. avium*'un Leghorn tavuklarda oportunistik patojen olduğunu bildiren araştırmacılar da bulunmaktadır (Horrox, 1983; Jackwood ve ark., 1995).

*B. avium*'un evcil kanatlı hayvanlar kadar yabani kanatlılarda da infeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir. Raffel ve ark. (2002) tarafından Amerika'da yabani ve evcil

kanatlı hayvanlarda *B. avium*'un prevalansını ölçmek için gerçekleştirilen bir çalışmada 61 kanatlı türünden toplanan 237 kan örneği alınmış, bunlardan 41 türe ait 100 serumda *B. avium*'a karşı antikor oluştuğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte dokuz adet izolasyon gerçekleştirilmiştir.

Bordetella benzeri bakteriler dünyanın birçok yerinde hindilerde rhinotracheitis salgınlarının ortaya çıkması sonucu izole edilmişlerdir. Bu etkenler Kanada'da *B. bronchiseptica* ile ilişkili (Ficken, 1983), Batı Almanya'da *B. bronchiseptica* benzeri (Gray ve ark., 1983; Helwing ve Arp, 1990, Hinz ve ark., 1978, Hinz ve ark., 1981), ABD (Savelkoul ve ark., 1993), İsrail (Simmons ve Gray, 1979), Fransa (Andral ve ark., 1985), İngiltere (Hinz ve ark., 1992) ve Kanada'da (Blore ve ark., 1991) *Alcaligenes faecalis* olarak isimlendirilmiştir. Filion ve ark. (1967) hindi rhinotracheitisinin *Bordetella* cinsine ait bir bakteriden kaynaklandığını ilk kez 1967 yılında Kanada'da; bundan yaklaşık 10 yıl sonra infeksiyonun Almanya ve ABD'de *B. bronchiseptica* benzeri ve *A. faecalis* olarak bilinen bir etkenden kaynaklandığı bildirilmiştir (Simmons ve ark., 1986). Kersters ve ark. (1984) tarafından yapılan sistematik bir çalışmada ise hindilerde rhinotracheitis'e sebep olan bakteriyel etkenlerin bordetellanın yeni türü olduğuna karar verilmiştir. Hindilerde *B. avium* infeksiyonu ile ilişkili diğer bir üst solunum yolu salgını da 1981 yılında İngiltere'de ortaya çıkmıştır (Burke ve Jensen, 1981). Norfolk'ta ise 1985 yılında salgınlar başlangıçta 15 haftalık hindilerde görülürken daha sonra bir haftalık yaştaki hindilerde de etkili olmuştur. İlk 24 saat içinde % 100'e varan bir morbidite görülmesine rağmen, mortalite % 1-30 arasında kalmıştır (Barnes ve Hofstad, 1977; Kersters ve ark., 1984). Daha sonra 1986 yılında hastalık etkeninin isminin *Bordetella avium* olması önerilmiş ve bu isim resmen kabul edilmiştir (Jackwood ve ark., 1986).

Amerika'da yapılan çalışmalarda araştırmacılar, hindi rhinotracheitis etkeninin virüs olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Blackal ve Rogers, 1991). Ancak, Adenovirüsler sıklıkla hastalığa karışsa da deneysel olarak kanatlılarda hastalık oluşturulamamıştır. Postmortem olarak bursal atrofisinin oluşması hastalıkta infeksiyöz bursal hastalık virusunun (IBDV) hindi rhinotracheitis infeksiyonunda rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Hindilere zayıflatılmış IBDV virusu deneysel olarak inokule

edildiğinde klinik olarak hastalık ya da lezyonların gelişmediği bildirilmiştir (Collins ve Gough, 1988).

Bordetellozis hindilerde *B. avium* tarafından ya tek başına ya da diğer solunum yolu patojenleriyle birlikte diğer çevresel stresler bulunduğunda oluşturulur. Simmons ve ark. (1979), Amerika'da hastalığın küçük Gram negatif basil tarafından meydana getirildiğini deneysel bir çalışma ile tespit etmişlerdir. Bakteri *A. faecalis* olarak tanımlanmış ve üre hidrolizi hariç diğer özellikleri bakımından *B. bronchiseptica*'ya benzer olduğu belirlenmiştir (Simmons ve ark., 1986).

*B. avium* hareketli bir mikroorganizmadır; 25 °C'de, 37 °C'den daha fazla flagella oluşturur. Flagellalı ve flagellasız mutantların virülensleri aynıdır (Pardue ve Luginbuhl, 1998). Zenginleştirilmiş buyyonda *B. avium* un gelişmesi sonucu filamentli formları da görülür (Cook ve ark., 1991). Leyh ve Griffith (1992) sadece *B. avium*'un üreyebildiği özel bir besiyeri geliştirmişlerdir. Etken koyun kanlı agar, Brain Heart Infusion Agar (BHIA), MacConkey agar, Bordet Gengou, Trypticase soy agar gibi birçok katı besiyerinde üreyebilir. Zenginleştirilmiş buyyonda üremesi sonucu filamentöz formlar gözlenir (Akeila ve Saif, 1988; Blackall ve ark., 1995; Jackwood ve Saif, 1985; Skeels ve Arp, 1998). *B. avium* modifiye pepton agarda *Alcaligenes* ve *Pseudomonas* türleri gibi besiyerinin rengini maviye dönüştürerek ürer. Modifiye selektif besiyerinin kullanılması *Pasteurella multocida* ve *B. bronchiseptica* bakterilerinin gelişmesini sınırlandırıp, diğer respiratorik bakterilerin gelişmesini engelleyerek *B. avium* türlerinin çok iyi üremesini sağlar. *B. avium* MacConkey agarda 48 saatlik inkubasyondan sonra parlak, toplu iğne başı büyüklüğünde iki çeşit koloni oluşturarak ürer. Birincisi konveks, kenarları düzgün, parlak Smooth (S) koloniler, ikincisi girintili çıkıntılı, bazen düz bazen de pürüzlü yüzeyli Rough (R) koloniler. Genellikle S koloni meydana getiren etken; sülfid indol motilite agarda hareketli iken, R koloni meydana getiren izolatların flagellaları olduğu halde hareketsizdirler, bunun nedeninin yapısal bozukluktan ziyade bir fonksiyon bozukluğu olduğu bildirilmiştir. Kanlı agarda yapılan ekimlerde R ve S koloniler tipik olarak görülebilir. Bazen intermedier tipte koloniler meydana gelebilir. Laktozu fermente eden birçok kontaminant sıklıkla *B. avium*'u maskeleyen büyük mukoid koloniler oluştururlarsa da,

*B. avium* küçük kolonileri daha seyrek ekim hatlarının oluşturulmasıyla fark edilebilmektedir. İnkubasyon süresi 48 saate kadar uzatıldığında merkezi kahverengimsi *B. avium* kolonileri daha kolay tespit edilir. İnfeksiyonun erken dönemlerinde trakeadan saf kültürler elde edilebilir fakat sonraki dönemlerde etken ile birlikte *E. coli* ve diğer fırsatçı bakteriler de izole edilebilir (Quinn ve ark., 1994; Skeeles ve Arp, 1998).

*B. avium*'un R ve S koloni meydana getiren tüm izolatlarının kapsül yapılarında herhangi bir farklılık yoktur. *B. avium*'un çok ince bir kapsül yapısının olması nedeni ile bazı araştırmacılar etkenin kapsülünün olmadığını bile savunmuşlardır (Jackwood ve ark., 1995). Aynı çalışmada araştırmacılar sadece S tipli koloni meydana getirerek üreyen suşların inokule edildiği hindi palazlarında hastalık oluşturduğunu ve etkene karşı da 10. günden itibaren belli bir seviyede aglutine edici antikorlar şekillendiğini bildirmişlerdir. R tipi koloni meydana getirerek üreyen suşların ise hastalık oluşturmadıkları gibi 21. güne kadar herhangi bir antikor yanıtına da neden olmamışlardır.

Şüpheli *B. avium* izolatlarına üreaz test medium ve kanlı agar veya BHIA kullanılarak hemaglutinasyon testleri yapılır. *B. avium*'un negatif üreaz reaksiyonunun ayırımında üreaz pozitif olan *B. bronchiseptica* kullanılır. *B. avium* identifikasyonu için en önemli kriterler, trakeal örneklerden yapılan ekimlerde selektif besiyerindeki tipik kolonilerin görülmesi, etkenin üreaz negatif reaksiyonu ve kobay eritrositlerinin aglutinasyonudur (Quinn ve ark., 1994).

Koloni morfolojilerinin stabilitesi üzerine yapılan çalışmalarda 37 °C'de inkube edilen ve 48 saatte bir pasajları yapılan suşların beşinci pasaja kadar koloni morfolojilerinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Bununla birlikte +4 °C'de agar üzerinde saklanan *B. avium* suşlarının koloni morfolojilerinde meydana gelen değişiklikler ise reversibildir. *B. pertussis* ve *B. bronchiseptica* kültürlerinin 48 saatte bir yapılan pasajlarında faz değişikliğine bağlı olarak koloni morfolojilerinde değişiklik meydana gelmektedir. *B. avium*'un bozulmaması için 24 saat içinde % 50 gliserin katılarak hazırlanan besiyerinde -70 °C'de veya sıvı nitrojende saklanması gerekmektedir (Hopkins ve ark., 1990; Gentry-Weeks ve ark., 1991).

*B. avium* dezenfektanlara karşı oldukça duyarlıdır. *B. avium*' un düşük sıcaklık, düşük nem ve nötr pH'da canlı kalma süresi artmaktadır (Burke ve Jensen, 1980; Leyh ve Griffith, 1992). Hindi kümeslerinden toz veya dışkı gibi materyallerle taşınabilen, 10 °C ve % 32-58 nem oranında 25-33 gün canlı kalabilen mikroorganizmanın 40°C'de aynı nemde 2 günden az, hiç işlem görmeyen altlıkta en az altı ay canlı kaldığı bildirilmiştir (Barbour ve ark., 1991). Brain Hearth Infusion Broth (BHIB)'da 45 °C'de 24 saatte ölür. 10 °C'de daha uzun süre canlı kalabilir (Arp ve Helwing, 1988). Temizlenmemiş ortamın metil bromid ile fumigasyonu ile hastalığın günlük duyarlı civcivlere bulaşması etkili bir şekilde durdurulur (Savelkoul ve ark., 1993).

*B. avium* şuşlarının birçoğu in vitro olarak antibiyotiklerin çoğuna duyarlı olmasına rağmen 5 plasmid halkalı, 16-51,5 kb büyüklüğündeki bazı şuşları streptomisin, sülfanamidler ve tetrasiklinlere duyarsızdırlar. *B. avium* şuşlarının in vitro olarak oksitetrasiklinlere duyarlı olduğu bildirilmiş; ancak yapılan çalışmalar, *B. avium* ile infekte hindilerin tedavisinde oksitetrasiklinin parenteral veya aerosol yolla uygulanmasının in vitro olarak oksitetrasikline duyarlı *B. avium* şuşlarında bile ya bakteri sayısında geçici azalmaya neden olduğunu ya da hiç bir etki oluşturmadığını göstermiştir (Yashpal ve ark., 2004).

*B. avium*' un antijenik yapısının ortaya konulması için agar jel presipitasyon (AGP), aglutinasyon ve Western immunoblotting yöntemleri kullanılmıştır (Arp ve ark., 1993; Goldman, 1986; Jackwood ve ark., 1991). Elde edilen sonuçlar çeşitli kaynaklardan izole elden bütün *B. avium* izolatlarının antijenik olarak çok yakın olduğunu göstermiştir (Jackwood ve ark., 1986). Kersters ve ark. (1984), tavşanlardan elde edilmiş antiserum kullanarak *B. avium* şuşlarından 3 tanesi arasında kros reaksiyon oluşturan 6 farklı yüzey antijeni tanımlamışlardır.

Helwing ve Arp (1990), *B. avium*'da büyüklüğü yaklaşık 14-116 kD arasında değişen sekiz dış membran proteininin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Leyh ve Griffith (1992), sodyum dodesilsülfat-poliakrilamid jel elektroforezis (SDS-PAGE) kullanarak 50 virulent *B. avium* izolatının dış membran profillerini araştırdıkları çalışmada 21 ve

37 kD büyüklüğünde iki büyük ve 11 küçük proteinlerinden en az 13 tane olduğunu bildirmişlerdir. *B. avium*'un, *B. avium* benzeri ve *B. bronchiseptica* bakterilerinden farklı elektroforezis profiline sahip olduğu görülmüştür. Varley ve Carter (1992), 1980'lerin başlarında İngiltere'de hindilerden elde edilmiş yedi *Bordetella* izolatını SDS-PAGE kullanarak bilinen *B. avium*, *B. bronchiseptica* ve *A. faecalis* şuşları ile karşılaştırılmışlar, etkenlerin tüm elektroforetik yapılarının *B. avium* ve *A. faecalis* şuşlarıyla benzer olduklarını tespit etmişlerdir Bu durum, yöntemin *B. avium* ile diğer *Bordetella* türleri arasındaki ayırımı yararlı; ancak, *A. faecalis* ile ayırımında faydalı olmadığını göstermiştir.

*B. avium* ile ilgili virulens faktörlerinin çoğu belirlenmiştir. *B. avium*'un virulens faktörleri toksinler (termolabil, termostabil, trakeal sitotoksin, dermonekrotik toksin), hemaglutinin özelliği, piluslar ve flagella şeklinde sınıflandırılabilir (Gentry-Weeks ve ark., 1993).

*B. avium*'un bütün *Bordetella*'larda bulunan iki virulens faktörü olan dermonekrotik toksin ve trakeal sitotoksini ürettiği tespit edilmiştir. Termolabil toksin hindi palazlarına intraperitoneal verildiğinde toksik etki göstermesine rağmen, intranasal verildiğinde toksik etki göstermemiştir. Termolabil toksinin hindi trakeal organ kültürünün metabolizma ve morfolojisi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı da ortaya konulmuştur (Blackall ve Doheny, 1987; MacCorkle ve ark., 1985, Sander, 2005). *B. avium* ve diğer *Bordetella* türleri solunum yolu epitelindeki silialara yapışabilme özelliğindedir. *B. avium*'un moleküllere veya yüzey yapılarına adhezyon yeteneğinin olduğu, bunda hemaglutinin ve fimbriaların rol oynadığı bildirilmiştir. *B. avium* için fimbriaların adheziv faktör olduğu düşünülse de aynı fimbriaların *B. avium* benzeri bakterilerde de bulunduğu saptanmıştır (Houghten ve ark., 1987). Kobay eritrositleriyle aglutinasyon virulensle paralellik göstermektedir (Jackwood ve Saif, 1985).

*B. avium*'un tüm şuşlarında pilus vardır. Pilus üretiminin en iyi olduğu besiyerleri Trypticase Soy Broth ve % 2 peptonlu agardır. Etkenin inkube edildiği ısının pilus sentezlenmesi üzerine etkisi vardır. 37 °C ve 42 °C'lerdeki pilus sentezi aynı düzeyde olduğu halde 18 °C'de inkube edilenlerde bu seviye çok düşüktür. *B. avium*'



dan saf olarak elde edilen pilusların, patojen *B. avium* suşlarının önemli bir karakteri olan kobay eritrositlerini aglutine etme özelliğine sahip olmadıkları görülmüştür. Aynı zamanda piluslara karşı elde edilen antiserumun da *B. avium*'un hemaglutinasyon yeteneğini bloke etmediği ortaya konulmuştur (Jackwood ve Saif, 1987).

Çeşitli lokal etkiler *B. avium*' un toksinleri tarafından meydana getirilmektedir. *B. avium*'un hindi trakeal organ kültüründe sitotoksik ve siliostatik etkisi birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Gentry-Weeks ve ark., 1993; Rimler, 1985). Rimler (1985), genç hindileri ve fareleri öldürebilen termolabil toksin olduğunu tespit etmiştir. Bu toksinin hindi ve kobaylarda intradermal olarak verilmesinden sonra deride hemorajik ve nekrotik lezyonlar oluşturduğu, benzer lezyonların intraperitoneal injeksiyonundan sonra hindilerin pankreas ve karaciğerinde de görüldüğü bildirilmiştir (Neighbor ve ark., 1991). Yapılan çalışmalarda, *B. avium*'un termolabil toksin ile fiziksel, antijenik ve biyolojik özellikleri karşılaştırılan dermonekrotik toksin de ürettiği bildirilmiştir; ancak, bunun hindilerdeki bordotellozisin patogenezisindeki rolü henüz saptanamamıştır. (Gentry-Weeks ve ark., 1988). Gentry-Weeks ve ark. (1993), nikotik asit ve MgSO<sub>4</sub> eklenmiş besiyerinde gelişen *B. avium*'un dermonekrotik toksin ve dört dış membran proteininin olmadığını tespit etmişlerdir. Bu varyantlar farklı koloni morfolojisine sahiptirler fakat kobay eritrositlerini aglutine etme yeteneğindedirler. Duyarlı hindilere pasajlanmasıyla bu varyantlar saha tipine dönüşmüşlerdir.

*B. avium*'un lokal mukozal yaralanmalar yapan diğer bir toksini olan trakeal sitotoksin (TCT) Gentry-Week ve ark. (1988) tarafından elde edilmiştir. *B. avium* tarafından üretilen kimyasal olarak *B. pertussis*'in TCT'si ile aynı olan TCT, epitel hücrelerindeki silialara hasar vererek epitelin kaybolmasına ve mukusun azalmasına neden olur (Goldman, 1986).

Simmons ve ark. (1986), *B. avium*'un intraperitoneal olarak inokule edildiğinde farelerde diyare ve ölüme sebep olabilen; ancak, kanatlılarda bu etkisine ait bir kanıt bulunmayan termotabil bir toksin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Dünyada diğer hindi yetiştirilen bölgelerdeki referans şuşlarda bulunan fare letal toksinin Avusturalya'da izole edilen 18 *B. avium* şuşunda da bulunduğu görülmüştür (Blackall ve Farrah, 1986).

Gentry-Weeks ve ark. (1993), tarafından 1991 yılında *B. avium*'la ilgili bir osteotoksin bulunmuştur. Bu toksinin trakeal yumuşama ve kollapsa neden olan kıkırdak lezyonlarına sebep olabileceği bildirilmektedir.

*B. avium* şuşları arasında patojenite farklılıkları bildirilmiştir (Panigrahy ve ark., 1981). Patojenite farklılıkları etkenin koloni morfolojisi ve hemaglutinasyon özellikleri ile ilgilidir. Bu özellikler izolatların çeşitli gruplara ve tiplere ayrılmasına neden olmuştur. *B. avium*'un moleküler özellikleri ile ilgili devam eden çalışmalarda çeşitli ayırıcı özellikleri tespit edilmiş, başlangıçta grup1 ve tip1 olarak isimlendirilen şuşlar; artık, *B. avium* olarak isimlendirilmektedirler (Jackwood ve Saif, 1985). Yapılan çalışmalar *B. avium* şuşlarının dış membran proteinlerinin elektroforetik yapılarındaki büyük orandaki benzerliğini ortaya koymuştur (Jackwood ve ark., 1986; Van Alstine ve Hofstad, 1985). *B. avium* benzeri diğer *Bordetella* türleri ve *B. avium* arasında birçok kros reaksiyon antijeni bulunmaktadır (Goldman, 1986). *B. avium* şuşları arasındaki genetik ve moleküler benzerliğe rağmen, toksin üretimi (Blackall ve Farrah, 1986; Sander, 2005), trakeal mukozada adhezyon (Arp, 1986; Singer ve ark., 1981), plazmid proteinleri, antibiyotik duyarlılıkları (Jackwood ve Saif, 1985), patojeniteleri ve koloni morfolojileri bakımından farklılıklar olması dikkat çekicidir (Hopkins ve ark., 1990; Jackwood ve ark., 1986).

İnfekte kanatlılarla direkt temas eden duyarlı kanatlılarda inkubasyon süresi 7-10 gündür (Saeb ve ark., 2002). İntranasal veya intraoküler yolla  $10^5$ - $10^7$  colony forming unit (cfu)/ml *B. avium* inokule edilen günlük civcilerde inokulasyondan 4-6 gün sonra bordetellozisin klinik semptomlarının görülmeye başladığı bildirilmektedir (Arp ve Cheville, 1984).

Bordetellozis çok bulaşıcıdır. Yapılan çalışmalarda hastalığa yakalanıp tedavi edilen hayvanlarda etkenin tekrar kolaylıkla izole edilebildiği bildirilmiştir. Çünkü,

çevresel faktörler iyileşmedikçe, stres faktörleri ortadan kaldırılmadıkça, uygun hijyenik koşullar sağlanmadıkça infeksiyon sürekli tekrar edebilir (Barnes ve Hofstad, 1977; Blackall ve Farrah, 1985). Kontamine altlıkta 1-6 ay infektif kalabilir. Diğer türlerden izole edilen *B. avium* suşları bir günlük hindiler için patojendir. Deneysel olarak tavuklarda yapılan çalışmalarda sekiz *B. avium* suşundan sadece iki tanesinin trakeaya kolonize olduğu ve hastalık oluşturduğu saptanmıştır. Daha sonra yapılan bir çalışma ise tavuklardan yapılan izolasyonların hem *B. avium* hem de *B. avium* benzeri bakterileri içerdiğini göstermiştir. Buna göre *B. avium*'un hindi ve tavuk suşları benzerdir, türler arasında kros infeksiyonlar şekillenebilir. Tavuklardaki bordetellozis hindilere göre daha hafif seyredir. Hindi ve bildircinlar için patojen olan bir suşu kobay, hamster ve farelerde klinik bir hastalık oluşturmamıştır. Doğal infeksiyonlar 2-6 haftalık hindilerde şekillenirken daha yaşlı hindilerde ve damızlık kümeslerde de hastalık görülebilir (Simmons ve ark., 1986).

Hindilerde özellikle, 2-6 haftalıklarda şiddetli aksırık görülmesi hastalık için tipiktir. Daha yaşlı hindilerde ayrıca kuru öksürükde oluşabilir (Jackwood ve Saif, 1985). Burun delikleri arasından hafifçe bastırıldığında berrak burun akıntı görülebilir. Hastalığın ilk iki haftasında burun ve baştaki tüyler ve kanatlar ıslanır, yapışkan, kahverengimsi bir eksudatla kaplanır ve bazı kanatlılarda submaksillar ödem görülür (Hinz ve ark., 1981a). İnfeksiyonu geçiren kanatlılarda burun boşluğu ve trakeanın üst kısmı mukoid eksudatla kapandığından ağızdan nefes alma, dispnea ve ses değişikliği görülür. Hastalığın ikinci haftasında bazı kanatlılarda trakeal yumuşama boyun derisinin palpasyonu ile hissedilebilir. Hareketlerde azalma veya hareketsizlik, yem/su tüketiminin düşmesi gibi klinik semptomlar şekillenir. Eğer bordetellozis ile birlikte seyreden başka infeksiyonlar da mevcut ise kilo almanın durması sonrası kötü sürü performansı ve gelişme geriliği görülür (Arp ve ark., 1993). Hastalık belirtileri hissedilmeye başladıktan 2-4 hafta sonra sona erer (Suresh ve Arp, 1993).

Bordetellozis hindilerde tipik olarak yüksek morbidite ve düşük mortalite ile karakterizedir. 2-6 haftalık yaştaki hindilerde morbidite % 80-100'lere ulaşırken, mortalite değişkendir. *B. avium* ile infekte olmuş damızlık sürülerinde % 20 morbidite meydana gelirken, mortalite görülmez (Jackwood ve ark., 1985). Genç hindilerde *B. avium* ile *E. coli*'nin birlikte izole edildikleri olaylarda mortalitenin % 40'dan fazla

oranda arttığı bildirilmiştir (Blore ve ark., 1991). 2-4 haftalık yaştaki hindilerde *B. avium* ve *E. coli* infeksiyonlarının deneysel olarak oluşturulduğu bir çalışmada *E. coli*'nin hava kesesi yangısının şiddetini arttırdığı görülmüştür (Suresh ve ark., 1994).

Cook ve ark. (1991), hindilerde hindi rhinotracheitis virus (TRTV), pneumovirus, *B. avium* ve *Pasteurella* spp. mikroorganizmaların etkileşimi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Yalnız TRTV virus uygulandığında, virusun sadece trachedan izole edildiğini; fakat bakteriyle birlikte verildiği zaman ise virusun invazyon kabiliyeti oluşturduğunu kalp, karaciğer, böbrek ve sekal tonsillerden de virus izolasyonu yapıldığını bildirilmişlerdir.

Hinz ve ark. (1992), farklı yaş grubunda kanatlıların yetiştirildiği altı farklı hindi sürüsünde *Chlamidia psittaci* ile birlikte *B. avium* salgınlarının çıktığını bildirmişlerdir. Ayrıca *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ve *P. fluorescens* gibi bakterilerle sekonder bakteriyel infeksiyonların oluşmasıyla sürüde mortalitenin artarak % 7-20 düzeylerine ulaştığı da bildirilmektedir. Son yıllarda solunum sisteminden *B. avium* ile birlikte *Ornithobacterium rhinotracheale* ve *Niesseria* spp.'nin de izole edildiğini bildiren araştırmalar bulunmaktadır (Saeb ve ark., 2002; Özbey ve Muz, 2006).

Makroskobik lezyonlar infeksiyonun devam edip etmemesine göre değişiklik gösterir ve daha çok üst solunum yollarında görülür. Nazal ve trakeal eksudat hastalığın devamı süresince serözden, yapışkan ve mukoide kadar değişik özellikte görülür. Trakeal lezyonlar generalize yumuşama, kıkırdak halkalarının distorsiyonu, dorsal-ventral kompresyon ve fibrinomukoid eksudat görülmesi hastalık için tipik semptomlardır (Arp ve Cheville, 1984). İzolasyon yapılan olgularda, larinksin hemen altındaki dorsal trakeal duvar, lumene doğru aşırı katlanma oluşturur. Çapraz kesitte, trakeal halkaların kalınlaştığı, lumeninin küçüldüğü dikkati çeker. Mukoid eksudatın trakeaya yerleşmesiyle sıklıkla hayvan boğularak ölür. İnfeksiyonun ilk iki haftası boyunca baş ve boyunda ödem, nasal ve trakeal mukozada hiperemi görülür (Arp ve Cheville, 1984, Van Alstine ve Arp, 1987).

Histopatolojik olarak silialara yerleşmiş bakteriyel koloniler, epitelyumdaki siliaların kaybolması ve goblet hücrelerinden mukusun azalması enfeksiyon için ayırt edici özelliklerdir (Arp ve Cheville, 1984). Nazal mukozada epitelyum silialarında başlayan kolonizasyon, trakeanın aşağılarına doğru ilerler ve 7-10 günde primer bronşlara gelir. Bakteriler spesifik olarak siliaya yapışırlar (Arp ve Fagerland, 1987). Klinik belirtilerin oluşmasından bir iki hafta sonra ve silia hücresi kaybından önce trakea mukozasında çok miktarda bakteri kolonisi görülebilir (Arp ve Cheville, 1984; Arp ve Fagerland, 1987). Belirtilerin ilk iki haftası boyunca trakea epitelindeki silialar büyük miktarda kayba uğrayarak yerini siliasız kübik epiteller alır. Bu olgunlaşmamış hücreler küçük mukoz granüllerle birlikte bazofilik sitoplazmaya sahiptir (Arp ve Cheville, 1984, Van Alstine ve Arp, 1987). Hastalığın ilk üç haftasında trakea epitelinin sitoplazmasında linear eozinofilik inklüzyonlar saptanır (Arp ve Cheville, 1984; Arp ve Fagerland, 1987). Yapısal olarak bu inklüzyonlar bir membranla çevrili paralel filamentlerden oluşan proteinöz kristalleridir (Arp ve Fagerland, 1987; Dillman ve Simmons; 1977). Hastalığın üçüncü ve dördüncü haftasında trakeal mukoza epitelinin yapısının bozulması ile birlikte büküldüğü görülür ve üzerinde kıvrımlı tepelikler oluşur. Hastalığın şiddetine bağlı olarak klinik bulguların görüldüğü dönemden 4-6 hafta sonra trakea epiteli normale döner. Bu aşamada artık *B. avium* izole edilemez (Arp ve Fagerland, 1987).

Bordetelloziste tanısız değer taşıyan ayırıcı mikroskopik lezyonlar silialara yapışık bakteriyel koloniler, sitoplazmik inklüzyonlar, kistik mukozal bezler ve silialı epitelyumun generalize yıkımı şeklinde özetlenebilir (Simmons ve ark., 1986).

Hastalığın meydana gelmesinde en önemli faktör etkenin üst solunum yolları epitellerinin silialarına kolonize olmasıdır. Oronasal mukozanın silialı hücrelerine yapışan bakteriler ilerleyerek bir haftada trakeanın üst kısmında ve primer bronşlarda kolonize olurlar burada çoğalarak trakea mukozasında akut yangı, epitelyumlarda silia kaybı, aşırı mukus salgılanmasına bağlı olarak goblet hücrelerinde mukusun azalması ve trakea halka yapısında bozulma sonrasında hapşırma, tıksırma ve burun tıkanıklığı meydana getirirler (Simmons ve ark., 1986).

Klinik belirtilerin görüldüğü ilk haftada *B. avium*'un antijenlerine karşı immun yanıt gelişir. Oluşan antikorlar *B. avium* ile etkileşim gösterir, mikroorganizmaların hareketlerini yavaşlatır ve diğer silialı hücrelere adhezyonu önler. Bununla birlikte pek çok bakteri ortam boyunca kolonize olmuş epitelyal hücrelere yapışmış olarak bulunur. Birkaç haftadan sonra bakteriyel populasyon azalır, kolonize olan hücreler kaybolur ve yeni formdaki silialı hücreler bakteri kolonizasyonundan antikorlar tarafından korunur (Van Alstine ve Arp, 1987).

İyileşme dönemindeki bazı kanatlılar solunum yollarındaki *B. avium*'dan yavaşça arınabilir; ancak, bu kanatlılar duyarlı hayvanlar için infeksiyon kaynağı olurlar. Mukozal bağışıklık etkenin alınmasından 4-8 hafta sonra azalır. Duyarlı kanatlılarda burun akıntısı ve sinüslerdeki *B. avium* populasyonunda ufak bir kalıntı kalsa dahi tekrar klinik infeksiyon gelişebilir ya da etken duyarlı hayvana bulaşabilir (Van Alstine ve Arp, 1987).

Bordetellozisin tanısı klinik bulgular, etkenin solunum yollarında meydana getirmiş olduğu lezyonlar, üst solunum yollarından etken izolasyonu ve serolojik testler ile konulur (Blackall ve Doheny, 1987). Bunlara ek olarak monoklonal antikorlara dayalı lateks aglutinasyon testi (Suresh ve Arp, 1993), İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) kullanarak monoklonal antikorların tespiti, kapillar gaz kromatografisi ve Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) teknikleri gibi ek tanı metotları da bulunmaktadır (Skeeles ve Arp, 1998).

Etkenin izolasyon ve identifikasyonu için bakteriyel kültür örnekleri klinik olarak hastalık belirtilerini gösteren hindilerin larinks ve trakealarının orta kısmından steril sıvaplarla alınır. Burun boşluğu ve sinüslardan da örnek alınabilir, fakat buralarda bulunan çok miktarda apatojen etkenler *B. avium*'un gelişmesini baskılayabilir. Mikroorganizmanın oda sıcaklığında ve daha yüksek sıcaklıklarda birkaç gün yaşayabildiği ancak 40 °C'de iki günden sonra canlılıklarının azaldığı bildirilmiştir (Hopkins ve ark., 1990).

Etkenin ilk izolasyonu koyun kanlı agarda yapılabilir. Bununla birlikte; MacConkey, Bordet-Gengau Agar (BGA), Trypticase Soy Blood Agar (TSBA), BHIA ve diğer birçok katı besiyerinde üreyebilirler (Blackall ve Farrah, 1985; Quinn ve ark., 1994). Ayrıca, *B. avium* izolasyonu için pepton agarın orijinal formülasyonu modifiye edilmiş ve böylece etkenin daha iyi üremesi için özel bir besiyerinin geliştirildiği de bildirilmiştir (Skeeles ve Arp, 1998).

İnfeksiyonun tanısı için en önemli nokta primer kültürden *B. avium*'un, *B. avium* benzeri mikroorganizmalardan ayırt edilmesidir. Hemaglutinasyon testi etkenin ayırıcı tanısında önemli yer tutar. Hemaglutinasyon testi için kanlı agarda üretilen koloniler PBS ile süspansiyon haline getirilerek, McFarland tüp no. 4'e göre ayarlanır ve bunun 25 µl'si ile aynı miktarda % 10'luk kobay eritrositi karşılaştırılarak hemaglutinasyon yönünden değerlendirir. *B. avium*, kobay eritrositlerini aglutine etmesi, üreaz-negatif özellikte olması, % 6,5 NaCl broth ve minimal katı besiyerlerinde gelişmemesi diğer bakterilerden ayırıcı özellikleridir (Blackall ve Doheny, 1987). *B. avium* benzeri bakterilerin ise hemaglutinasyon özellikleri yoktur, katı besiyeri veya % 6,5 NaCl içeren sıvı besiyerlerinde üreme yetenekleri bulunur. Günlük kanatlılara 24 saatlik *B. avium* sıvı kültürlerinin intranasal inokulasyonundan 3-5 gün sonra duyarlı kanatlılarda burun akıntısı ve klinik hastalık belirtileri görülebilir. *B. avium* ile sıklıkla karışabilen *B. bronchiseptica*'da hemaglutinasyon yapabilir, ancak üreaz pozitif olması ile *B. avium*'dan ayrılabilir (Jackwood ve Saif, 1987).

*B. avium* ve *B. avium* benzeri bakterileri birbirinden ayırabilmek için ampisiline duyarlılıkları da araştırılmıştır. *B. avium* ampisiline duyarlı, *B. avium* benzeri bakteriler ise dirençlidir (Blackall ve ark., 1995). Etkenin identifikasyonunda farklı yöntemler de geliştirilmiştir. Blackall ve Doheny (1987), alkalizasyon yöntemi ve API 20 NE kullanarak etkeni tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Şimdiye kadar yurdumuzda hindilerden *B. avium*'un izole edildiğine dair bir çalışma ise bulunmamaktadır. Bununla birlikte Özbey ve Muz (2006), Elazığ İl'inde yaptıkları çalışmada 250 pnömonili tavuk akciğerini incelemişler; 3 (% 1,2) tane *B. avium* suşu izole ettiklerini bildirmişlerdir.

*B. avium*'a karşı gelişen antikorların saptanmasında en çok kullanılan serolojik testler ELISA, IFAT ve MAT'dir. Blore ve ark. (1991), yaptıkları çalışmada, *B. avium* ile yapılan Partikül Konsantrasyonu Fluoresans Immunoassay (PCFIA) tekniğinin ELISA ile tutarlılık gösterdiğini ve bu testi oldukça duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir.

MAT'nin bakteriyel izolasyon ile iyi korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur. Hatta solunum sistemi infeksiyonu anamnezine sahip sürülerde, bazen bakteri izolasyonu yapılamamasına karşın, *B. avium* yönünden serolojik olarak MAT ile teşhis konulabilen vakalar bulunmaktadır. MAT ile tespit edilebilen antikorlar sınıfı IgM'dir (Jackwood ve Saif, 1980).

MAT için *B. avium* antijeni elde etmek güç olduğundan bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada *B. avium*'un filamentöz formları elde edilmiştir. Zenginleştirilmiş besiyerinin şiddetli çalkalanması ve aynı zamanda 37 °C'de inkübe edilmesi sonucu filamentöz formda *B. avium* ürediği görülmüştür. R ve S koloni morfolojisine sahip etkenlerin her ikisinde de filamentöz form elde edilmiştir. Filamentöz forma sahip etkenler de kobay eritrositlerini aglutine etmişlerdir. Hareketli, piluslu ve flagellaya sahip S kolonilerden elde edilen filamentöz form hindi yavruları için patojen iken R kolonilerden elde edilen filamentöz formların apatojen olduğu görülmüştür (Domingo ve ark., 1992).

Bordetellozisin tedavisinde içme suyu, injeksiyon ve aerosol yolla antibiyotikler uygulanarak birçok olguda klinik iyileşme sağlanmıştır. İnfekte bir damızlık sürünün tedavisinde 1,8 g tetrasiklin-HCl ve 2 x 10<sup>6</sup> IU potasyum penicillin-G (3 gün boyunca, 1 galon içme suyuna) uygulanmasıyla 24 saat içinde klinik iyileşme görüldüğü bildirilmiştir (Jensen ve Marshall, 1981; Kelly ve ark., 1986). Genç hindilerin tedavisinde oksitetrasiklin HCl'ün aerosol yolla kullanılmasını izleyen Newcastle hastalığı aşısının ölümleri azalttığı bildirilmektedir (Ficken, 1983). Bu klinik deneyimler tedavi için uygulanmakla birlikte, klinik belirtilerin *B. avium*'dan mı yoksa *E. coli* gibi sekonder patojenlere karşı olan antibakteriyel etkilerden mi kaynaklandığı henüz açıklık kazanmamıştır (Sander, 2005).



Deneysel olarak infekte edilmiş kanatlılarda, parenteral yolla uzun süre etkili oksitetrasiklin kullanılmasının *B. avium* infeksiyonu üzerinde önemli bir etkisi bulunmamıştır (Simmons ve ark., 1980). Deneysel olarak oluşturulan bordetellozisin tedavisi için oksitetrasiklin-HCl'nin aerosol yolla uygulanması, trakeadaki bakteri sayısını azaltmış ve klinik belirtilerin ve lezyonların gelişmesini geciktirmiştir. Buna karşın uygulamadan dört gün sonra tedavi edilen ve edilmeyen gruplar arasında bakteri sayısı ve hastalık şiddetinin benzer olduğu görülmüştür (Van Alstine ve Hofstad, 1985).

Yersin ve ark. (1991), yaptıkları bir çalışmada, *B. avium* ile infekte olmuş hindilerin içme suyuna 70 mg/l niacin uygulanmasından sonra silia kaybında % 40 azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Niacin tedavisi aynı zamanda klinik belirtileri ve bakterilerin trakea epiteline kolonize olmalarını azatmış, canlı ağırlığı arttırmıştır.

Minnesota'da hindiler üzerinde yapılan bir çalışmada izole edilen 35 adet *B. avium* suşunun amikasinine karşı duyarlı, klindamisin, enrofloksasin ve eritromisine dirençli oldukları bildirilmiştir (McBride ve ark., 1991).

Skeeles ve ark. (1983), uzun süreli tetrasiklin tedavisinin hindi korizası üzerine etkilerini araştırmışlar ve sonuç olarak bu antibiyotiğin klinik bulgular ve etkenin kanatlılardaki varlığı üzerine etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Ficken (1983) ise tetrasiklinin klinik semptomları azalttığını ileri sürmüştür. Kelly ve ark. (1986), penisillin+tetrasiklin kombinasyonları ile yaptıkları tedavide hastalığın klinik semptomlarının hafiflediğini ileri sürmüşlerdir. Pardue ve Luginbuhl (1998), etçi beyaz hindilerin birinci günden itibaren içme sularına oksihalojen eklenmesinin *B. avium* infeksiyonunun klinik belirtilerini, trakeal epitelyumda meydana getirdiği hasarı azalttığını bulmuşlardır.

Deneysel olarak infekte edilen hindi palazlarının serum ve mukoza sekresyonlarında *B. avium*'a karşı meydana gelen antikor seviyeleri ölçülmüş, çalışmada iki günlük hindi palazlarına *B. avium* verilmiştir. Kontrol grubunda IgG tipindeki maternal antikor seviyesinin 3. haftada eski seviyesinin altına indiği

belirlenmiştir. Çalışma grubunda *B. avium*'a karşı meydana gelen antikorların (IgG, IgA, IgM) serum, trakeal çalkantı ve gözyaşı salgısındaki seviyeleri ölçülmüştür. Tüm örneklerdeki antikor seviyeleri 4-6. haftalarda en yüksek seviyeye ulaşırken, 6-8. haftadan itibaren seviyeleri hızla azalmaya başlamıştır. Genel olarak önce (4-5. haftalarda) IgM ve IgA seviyeleri pik yapmıştır fakat IgG seviyesinden daha önce seviyeleri düşmüştür. Trakeaya kolonize olan bakteri sayısı hindi palazları infekte edildikten 2-3 hafta sonra pik yapmıştır, 4-8. haftalarda azalmıştır. Doğrudan bir ilişki saptanamamasına karşın sonuçlar serum, trakeal çalkantı ve gözyaşı salgısında artan antikor seviyelerinin *B. avium*'un trakeadan kaybolması ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Suresh ve ark., 1994).

Hindi palazlarında oluşturulan deneysel infeksiyonlardan yaklaşık iki hafta sonra MAT ile tespit edilen antikor seviyesinin 3-4. haftalarda pik yaptığı belirlenmiştir. Serum antikor titresindeki artış trakeadaki bakteri sayısında azalma ve klinik olarak hastalığın ortadan kalkması ile orantılı bulunmuştur. *B. avium* ile infekte edilen hindi palazlarının trakeal sekresyonları *B. avium*'un trakea mukozasına yapışmasını inhibe etmektedir (Suresh ve ark., 1994).

*B. avium* direkt temas, su, yem ve altlıkla bulaşabilen oldukça bulaşıcı bir hastalık etkenidir. Hastalıktan ari sürülerin oluşturulması için tedbirler biyogüvenlik önlemlerinin iyi bir şekilde yerine getirilmesi ve kontamine işletmelerden bakterinin eradikasyonu için hijyen prosedürlerinin uygulanmasıdır. Altlığın kaldırılması bütün yüzeylerin iyice yıkanması, suluk sistemlerinin ve yemliklerin dezenfeksiyonu, dezenfektan kullanımından sonra formaldehit fumigasyonu veya bütün yüzeylere formaldehit solüsyonunun uygulanması gibi minimum hijyen prosedürlerinin uygulanması kontaminasyonun önlenmesi için uyulması gereken kurallardır. *B. avium* bir yerden diğer yerlere kolaylıkla taşınabilir. Bu nedenle dezenfektanlı ayak hijyen bariyeri, temiz iş kıyafetleri, gerekirse farklı kümesler ve bölgeler arasındaki ziyaretler öncesinde duş alınması gerekmektedir. Bordetellozisin şiddeti kötü çevre faktörleri nedeniyle artacağından sıcaklık, nem ve hava kalitesinin optimize edilmesi için gereken düzenlemeler yapılmalıdır (Cimiotti ve ark., 1982; Mortensen ve ark., 1989).

Bordetella aşısı 0-3 haftalık hindilerde *B. avium* antijenlerine yeterli lokal immun yanıt sağlayamamasından dolayı etkisiz olurken; 3 haftadan büyük olan hindilerde hastalık çıkışını önlediği için kullanılmasının faydalı olduğu bildirilmiştir (Hinz ve ark., 1981b; Houghten ve ark., 1987).

*B. avium*'un pilusundan ve bakterinin tümünden aşilar geliştirilmiş; bununla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Hazırlanan aşilar 1 veya 2 kez hindi palazlarına deri altı yolla verilmiş ve aşılamayı takiben 5. günde hayvanlar intranasal olarak *B. avium* ile infekte edilmişlerdir. Sonuç olarak, aşılanan hayvanlarda klinik tablonun çok hafif olduğu görülmüştür. Yine her iki gruptaki hindilerin sinuslarından etken izolasyonuna gidilmiş; aşısız grupta çok daha fazla hayvanın sinuslarından etken izole edilirken; aşılu grupta çok az sayıda hayvanın sinusundan etken izole edilmiştir (Akeila ve Saif, 1988).

Bordetellozisten korunmak için yurt dışında hindilerde *B. avium*'un canlı, ısıya duyarlı mutanı (ART-Vax TM, American Scientific Laboratories, Madison, WI) ve hücre bakterini (ADJUVAC-ART, Sanofi Animal Health, Inc., Overlands Park, KS) kullanılarak hazırlanan ticari aşiları kullanılmaktadır. Canlı aşı Kuzey Carolina'dan izole edilmiş olan virulent *B. avium* suşunun mutasyona uğramış şeklidir. Yapılan çalışmalar bu mutantının nasal mukozada kolonize olduğunu ve orta düzeyde serum antikorları oluşturduğunu göstermiştir (Burke ve Jensen, 1981). Utah'ta bu aşının kullanılmasıyla tam bir koruma sağlandığı bildirilmiştir (Hofstad ve Jeska, 1985; Houghten ve ark., 1987).

Yapılan başka bir aşı denemesi çalışmasında hazırlanan aşı hindilere 1 ml dozunda, subkutan uygulanmış; hindi serumlarında ve yumurta sarılarında antikor titrelerine ELISA ile bakılmıştır. Sonuç olarak, hindilerde ve bunlara ait yumurta sarılarında koruyucu düzeyde antikor titresi tesbit edilmiştir. Aynı zamanda bu hindilere ait yumurtalardan elde edilen palazlarda maternal antikorların varlığı ELISA ile başarılı bir şekilde ortaya konduğu, bu palazlara 1-7 günlük dönemde verilen patojen *B. avium* suşunun hastalık meydana getirmediği bildirilmiştir. Ancak, 14. günden itibaren patojen etken verilen palazlarda hafif bordetellozis semptomları görüldüğü bildirilmiştir (Neighbor ve ark.,1991).

Houghten ve ark. (1987), yaptıkları çalışmada, ısıya duyarlı mutant aşının firmanın önerdiği (göze damlatma/oral aşılama) yöntem ile sprey uygulama metodlarını karşılaştırmışlardır. Bir grup hindiye sprey yöntemi ile 2. ve 14. günde olmak üzere iki kez aşılarken; diğer grubu ise, 2. gün göze damlatma ve 14. gün oral yolla aşılama şeklinde aşığı uygulamışlardır. Sprey/sprey ve göze damlatma/oral aşılama metodları, trakeal lezyonların şiddetini azaltmada aynı etkiyi göstermiş, fakat virus epruvasyonunda infeksiyonun çıkışını önleyememiştir.

Yapılan çalışmalar damızlık tavukların aşılmasının yavrularda bordetellozisin önlenmesinde faydalı olacağını ortaya koymuştur (Arp ve Helwing, 1988; Hiz ve ark., 1983). Damızlık tavukların ısı (Eden ve ark., 1984) veya formalinle inaktive edilmiş (Barnes ve Hofstad, 1983) adjuvanlanmış bakterinli aşılarla aşılmasının, bakteriye maruz kalan kanatlılarda infeksiyonun klinik belirtilerinin şiddetini ve hastalığın çıkış zamanını geciktirdiği tesbit edilmiştir. Konvalesent serum (nekahat dönemindeki hayvanların serumları) ile 3 haftalık kanatlıların immunizasyonu *B. avium*'un trakeal mukozaya yapışmasını doza ve zamana bağılı olarak azaltmaktadır (Arp ve Helwing, 1988).

Yapılan başka bir çalışmada genel olarak kuluçkadan yeni çıkmış civcivlerde geçici bağışıklık sağılayan IgG sınıfı maternal antikolar oluşturulması önerilmektedir. Ayrıca civcivlerin purifiye pilus preparatları ve adjuvantlı bakterinlerle aşılmasının *B. avium* kolonizasyonunda ve klinik hastalığa karşı önemli bir koruma sağıladığı vurgulanmaktadır (Akeila ve Saif, 1988).

Jackwood ve Saif (1987), *B. avium* ve *B. avium* benzeri bakterilerin antijenik yakınlıkları olduğundan, *B. avium*'a karşı gelişen bağışıklığın patojenik olmayan *B. avium* benzeri bakterilere karşı da geliştiğini bildirilmişlerdir.

Hindilerde *B. avium* infeksiyonunda humoral immun yanıt gelişir (Arp ve McDonald, 1985; Jackwood ve Saif, 1987; Suresh ve ark., 1994). Serum antikoları deneysel inokulasyondan 2 hafta sonra görülür, 3-4 hafta sonra pik seviyeye ulaşır (Arp

ve McDonald, 1985; Jackwood ve Saif, 1987). Pik antikor titresini bir hafta içinde klinik hastalık belirtilerinin oluşması ve trakeadaki bakteri yoğunluğunun azalması izler (Arp ve Brooks; 1986). Humoral immunité infeksiyonun iyileşmesi ve önlenmesinde önemli bir role sahiptir ve maternal bağışıklık bunun kanıtıdır (Barbour ve ark., 1991; Hinz ve ark., 1983). Simmons ve ark. (1980), infeksiyon sırasında lenfosit blastogenezis supresyonu ve timik lezyonlar oluştuğundan *B. avium*'un immunsupressif etkisinin olabileceğini bildirilmişlerdir. Her ne kadar testler hücre sel immunitede şekillenen defektler açısından herhangi bir kanıt ortaya koymasa da *B. avium* ile meydana gelen infeksiyon *P. multocida* ve hemorajik enteritis aşılarıyla oluşturulan immuniteyi etkilemektedir. *B. avium* ile infekte hindilerin beyin ve lenfoid dokularında azalmış monoamin konsantrasyonları ve artmış serum kortikosteron düzeyi bildirilmiştir. Bu tip hormonal değişiklikler sadece bordetellozise özgü olmasa da sahada gözlenen immunosupresyonun açıklanmasına yardımcı olmaktadır (Lister ve Alexander, 1986).

### **3. MATERİYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3. 1. 1. Saha Serum Örnekleri**

Bu çalışmanın materyalini İzmir İl'i ve çevresinde bulunan, solunum sistemi problemi gösteren, değişik yaş gruplarındaki (45-120. günler arası), beyaz BIG 6 ırkı 63 kümeden ve 900 adet ticari hindiden alınan kan örnekleri oluşturmaktadır. Alınan kanlardan çıkarılan serumlar testler yapıncaya kadar – 20 °C'de saklanmıştır.

##### **3. 1. 2. Standart Suş**

Dr. Y.M. Saif'den (Food Animal Health Research Program Wooster, Ohio A.B.D.) temin edilmiştir.

##### **3. 1. 3. Deney Hayvanları**

Standart *B. avium* suşundan hiperimmünserum hazırlamak amacıyla Köy-Tür A.Ş.'den 5 adet bir günlük civciv temin edildi.

##### **3. 1. 4. Kontrol Serumları**

Negatif kontrol serumu Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Pozitif kontrol serum (hiperimmünserum) hazırlanmasında Hafez ve Sting'in (1999) *O. rhinotracheale* antiserumu hazırlamak için bildirdikleri yöntemin bir modifikasyonu kullanılmıştır.

### **3. 1. 5. Besiyerleri**

Standart suş kullanılarak MAT ve LAT antijenlerinin hazırlanmasında % 7 koyun kanlı BHIA (Difco) ve BHIB (Difco) kullanılmıştır.

### **3. 1. 6. Rose Bengal Boyası**

MAT ve LAT'nde reaksiyonun daha iyi görülebilmesi amacı ile hazırlanan antijenlerin renklendirilmesi amacı ile kullanıldı. Antijenlerin her 100 ml'sine 1/100' lük boya solusyonundan 1 ml katıldı.

### **3. 1. 7. Fosfat Buffer Saline (PBS)**

MAT antijeninin hazırlanmasında kullanıldı.

NaCl.....8 g  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....0,2 g  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+12H<sub>2</sub>O.....2,9 g  
KCl.....0,2 g  
Distile su.....1000 ml  
pH.....7,2

Karışım 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi (Becker ve ark., 1968) .

### **3. 1. 8. Ticari ELISA Kiti**

SYNBIOTICS (KPL, Maryland, USA) marka ticari *B. avium* ELISA kiti kullanıldı. Test işlemi üretici firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirildi.

## **3. 2. Metot**

### **3. 2. 1. Hiperimmünserum Hazırlanması**

Hafez ve Sting'in (1999) *O. rhinotracheale* antiserumu hazırlamak için bildirdikleri yöntemin bir modifikasyonu kullanıldı. Bunun için Köy-Tür AŞ.'den beş adet 1 günlük Ross 308 broyler civciv temin edildi. Hayvanlar 30 günlük oldukları zaman ilk ineksiyonları yapıldı. İneksiyondan önce kanları alınıp, ELISA ile *B. avium* yönünden antikor taşıyıp taşımadıklarına bakıldı. Denemede kullanılan tüm hayvanların *B. avium* antikorları yönünden negatif oldukları görüldükten sonra ilk ineksiyon işlemi için standart *B. avium* suşu 48 saat BHIB'da aerobik koşullarda üretildi. Kanlı BHIA'da total canlı bakteri sayımı yapıldı ve hazırlanan canlı bakteri hücreleri  $10^8$  cfu/ml/kanatlı olacak şekilde kanatlılara başlangıçta toplam 0,5 ml göz-buruna damlatma ve göğüs kasına batırma yöntemleri kullanılarak verildi. Hayvanlara on dört gün ara ile aynı yöntem ve sırasıyla toplam 1 ml ve 1,5 ml hazırlanan antijen, iki kez daha verildi. Her ineksiyondan önce ve ineksiyondan sonra kanları alındı ve üçüncü ineksiyondan 14 gün sonra (hayvanlar 72 günlük oldukları zaman) tavuklar öldürülerek tüm kanları alınıp serumları ayrıldı, bu serumlar serolojik testlerde pozitif kontrol serum (hiperimmün serum, antiserum) olarak kullanıldı. Tüm serumlar testler yapıncaya kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **3. 2. 2. LAT Antijeninin Hazırlanması**

*B. avium* LAT antijeninin hazırlanması için Back ve ark.'nın (1998) *O. rhinotracheale* lam aglutinasyon test antijeni hazırlamak için bildirdikleri yöntem kullanıldı. Bunun için standart *B. avium* suşu koyun kanlı BHIA'da 48 saat üretildi. Şekillenen koloniler bu sürenin sonunda distile su ile toplandı. Bu süspanسیون 3 saat  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de aerobik koşullarda bekletilerek içerisindeki son konsantrasyon % 0,8 olacak şekilde % 37'lik formalin'den 2,1 ml ilave edildi ve böylece inaktivasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra süspanسیون 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten



sonra üst sıvı döküldü ve pelet aynı miktarda distile su ile yeniden sulandırıldı. LAT için optimum hücre konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacı ile hazırlanan antijenin iki katlı sulandırmaları yapıldı ve bu sulandırmalar daha önce hazırlanan *B. avium* antiserumu (pozitif serum) ile karşılaştırıldı. Bilinen pozitif serum ile belirgin aglutinasyon veren; ancak, negatif kontrol serumu ile reaksiyon vermeyen en yüksek antijen dilusyonu lam aglutinasyon test antijeni olarak kullanıldı. Antijenin her 100 ml'sine 1/100 oranında dilue edilen Rose Bengal boyasından 1 ml konularak oluşan reaksiyonların gözle daha net bir şekilde takip edilmesi sağlandı.

### **3. 2. 3. MAT Antijeninin Hazırlanması**

*B. avium* MAT antijenin hazırlanması için Burns ve ark.'nın (1993) *B. bronchiseptica* MAT antijeni hazırlamak için bildirdikleri yöntemin bir modifikasyonu kullanıldı. Bunun için *B. avium* standart suşu BHIA'da 37°C'de 48 saat üretildikten sonra hücreler PBS (pH: 7,2) ile toplandı. Son konsantrasyonu % 0,25 olacak şekilde formalin ilave edilerek inaktivasyon için 37 °C'de bir gece bekletildi. Bu süspansiyon PBS ile 465 nm'de 1,2 OD olacak şekilde dilue edildi. Antijenin her 100 ml.'sine 1/100 oranında dilue edilen Rose Bengal boyasından 1 ml konularak oluşan reaksiyonların gözle daha net bir şekilde takip edilmesi sağlandı.

### **3. 2. 4. LAT'nin Yapılışı**

LAT için temiz bir lam üzerinde 25'er µl LAT antijeni ile aynı miktarda pozitif ve negatif serum örnekleri karşılaştırıldı. Pozitif kontrol serumunda iki dakika içerisinde belirgin bir aglutinasyonun görülmesi pozitif, negatif kontrol serumunda homojen bir bulanıklığın görülmesi negatif olarak değerlendirildi. Oluşan reaksiyonun şiddeti aglutinasyon oranına göre gözle kuvvetli pozitif (+++), pozitif (++), zayıf pozitif (+) ve negatif (-) şeklinde yorumlandı (Back ve ark., 1998).

### 3. 2. 5. MAT'nin Yapılışı

Mikroaglutinasyon Testi Burns ve ark.'nın (1993), bildirdikleri yöntemle yapıldı. Bunun için mikroyaletin tüm gözlerine 50 µl PBS konuldu. Daha sonra pleytin ilk gözlerine 50 µl pozitif, 50 µl negatif olduğu bilinen kontrol serumları ve sonraki gözlerle de yine 50 µl saha serumları eklendi. Serumlar 1/2'den başlayarak 1. gözden 12. göze kadar çift katlı olarak sulandırıldı. Daha sonra tüm gözlerle hazırlanmış olan *B. avium* MAT antijeninden 50 µl eklendi. Pleyt hafifçe elle çalkalanarak, 37 °C'de 2 saat ve daha sonra da +4 °C'de bir gece inkube edildi. Ertesi gün sonuçlar gözle değerlendirildi. Değerlendirme; negatif gözlerde nokta oluşurken, pozitif gözlerde ise aglutinasyon reaksiyonu (dantela) görülmesi ile yapıldı.

### 3. 2. 6. Ticari *B. avium* ELISA'in Yapılışı

SYNBIOTICS (KPL, Maryland, USA) marka ticari *B. avium* ELISA kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Test işlemi üretici firmanın önerdiği şekilde standart prosedür kullanılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

Test prosedürü:

1. Test pleytinin tüm boşluklarına 50 µl dilüsyon buffer kondu.
2. A1, A3, H11 nolu boşluklara 50 µl 1/50 oranında sulandırılmış pozitif kontrol serum kondu.
3. A2, H10, H11 nolu boşluklara 50 µl 1/50 oranında sulandırılmış negatif kontrol serum kondu.
4. Pleyt üzerinde uygun boşluklara (soldan sağa doğru, A4 ile H9 boşlukları arasında) 1/50 oranında sulandırılmış olan saha serum örneklerinden 50 µl kondu. Pleyt oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Boşluklar içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her boşluk 300 µl yıkama solusyonu ile 3 dakika beklenerek en az üç kez yıkandı.

6. Her boşluğa 100 µl 1/100 oranında sulandırılmış olan konjugat (keçi anti-hindi IgG peroksidaz) solusyonu kondu. Pleyt 30 dakika bekletildi.

7. Boşluklar içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her boşluk 300 µl yıkama solusyonu ile 3 dakika beklenecek en az üç kez yıkandı.

8. Her boşluğa 100 µl substrat kondu.

9. Her boşluğa 1/5 oranında sulandırılmış 100 µl stop solusyonu eklendi.

*Değerlendirme:* Optik dansite (OD) BioTek ELx808 Marka ELISA Reader'da 405 nm'de okundu. Değerlendirme materyallerdeki pozitiflik oranının (Sample to Positive Ratio: S/P) belirlenmesi ile yapıldı. Kit üreticisi firmanın önerileri doğrultusunda S/P oranı 0,303'den (OD=0,263, Grup:1) büyük olan serum örneklerinin alındığı hindiler serolojik olarak *B. avium* antikorlarının varlığı yönünden pozitif olarak kabul edildi.

### 3. 2. 7. İstatistik Analizler

ELISA standart test olarak kabul edildi, tüm testler iki yönlü olarak uygulandı. ELISA ile MAT ve LAT'leri arasında seropozitiflik görülme oranları McNemar testi ile; ELISA ve diğer testler arasındaki uyum ise Kappa testiyle değerlendirildi (Conover, 1999; Özdamar, 2001).

Ayrıca aşağıdaki parametreler de belirlendi (Conover, 1999; Özdamar, 2001):

Sensitivite:  $a/(a+c)$ ;

Spesifite:  $d/(b+d)$ ;

Negatif Prediktif Değer: (PV -):  $d/(c+d)$ ;

Pozitif Prediktif Değer: (PV +):  $a/(a+b)$ ;

Doğruluk:  $(a+d)/(a+b+c+d)$ .

## **4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA**

### **4. 1. Bulgular**

#### **4. 1. 1. ELISA, LAT, MAT'lerinin Sonuçları**

##### **4. 1. 1. 1. ELISA Sonuçları**

ELISA sonuçlarına göre negatif kontrol serumu ile yapılan testte antikor titresine rastlanmamıŐ olup, hazırlanan hiperimmunerum ile yapılan testte S/P oranı= 2,83 (OD: 1,90; Grup: 8) olarak bulundu (Şekil 1).

İncelenen 900 adet saha serumunun 706'sı (% 78,4) negatif olarak belirlenir iken; 194'ü (% 21,6) ELISA ile pozitif olarak bulundu. MAT'de en d'ş'k titre olarak belirlenen 1/4 ve LAT'de zayıf pozitif (+) saha serumunun ELISA'da S/P oranı: 0,32 (OD: 0,37; Grup: 1); MAT'de en y'ksek titre olarak belirlenen 1/1024 titresine sahip olan saha serumunun, LAT'de kuvvetli pozitif (+++), ELISA'da S/P oranının: 5,68 (OD: 2,12; Grup:14) olduğu belirlendi. İncelenen t'm pozitif serumlar dikkate alındığında, ticari ELISA ile titre grubu ortalama 7,5 (1-14 arası) olarak hesaplandı.

##### **4. 1. 1. 2. LAT'nin Sonuçları**

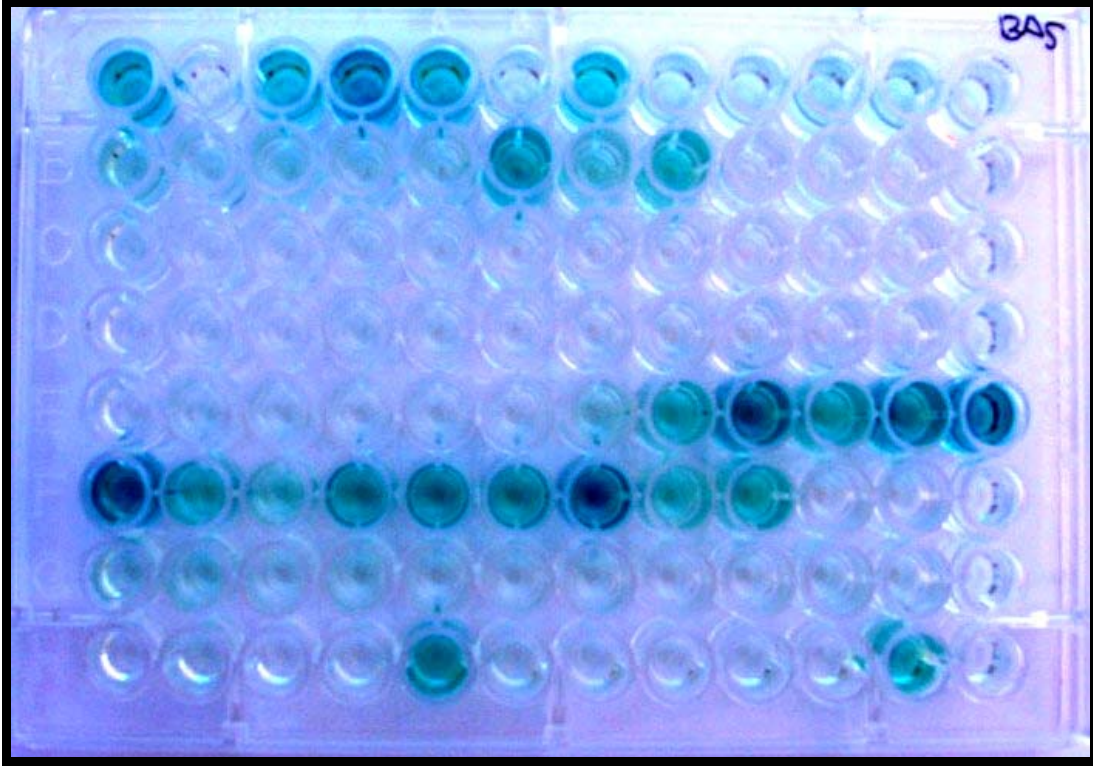
LAT'de negatif kontrol serumu ile yapılan testte antikora rastlanmamıŐ olup, hazırlanan hiperimmunerum ile yapılan test pozitif (++) olarak belirlendi (Şekil 2).

İncelenen 900 adet saha serumunun 776'sı (% 86,2) negatif olarak tespit edilir iken; 124'ü (% 13,8) LAT ile pozitif olarak bulundu. Pozitif olarak belirlenen 124 saha serumunun 24'ü kuvvetli pozitif (+++), 70'i pozitif (++) ve 30'u zayıf pozitif (+) Şeklinde reaksiyon gösterdi.

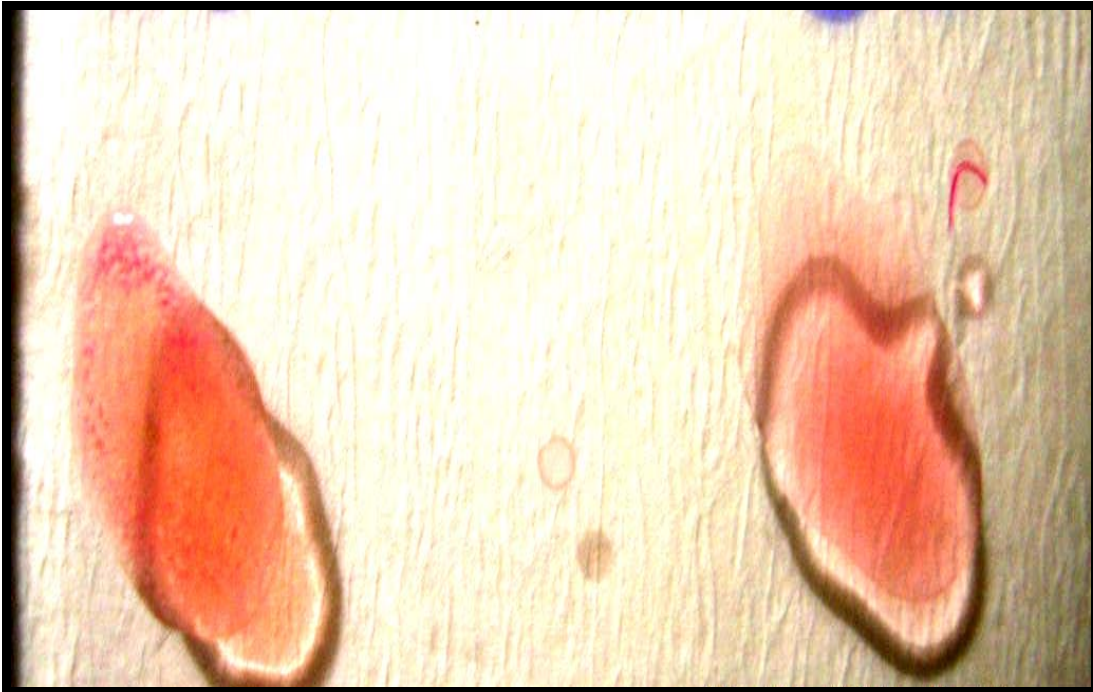
#### **4. 1. 1. 3. MAT'nin Sonuçları**

MAT sonuçlarına göre negatif kontrol serumu ile yapılan testte antikor titresine rastlanmamış olup, hazırlanan hiperimmunserum ile yapılan testte titre 1/64 olarak belirlendi (şekil 3).

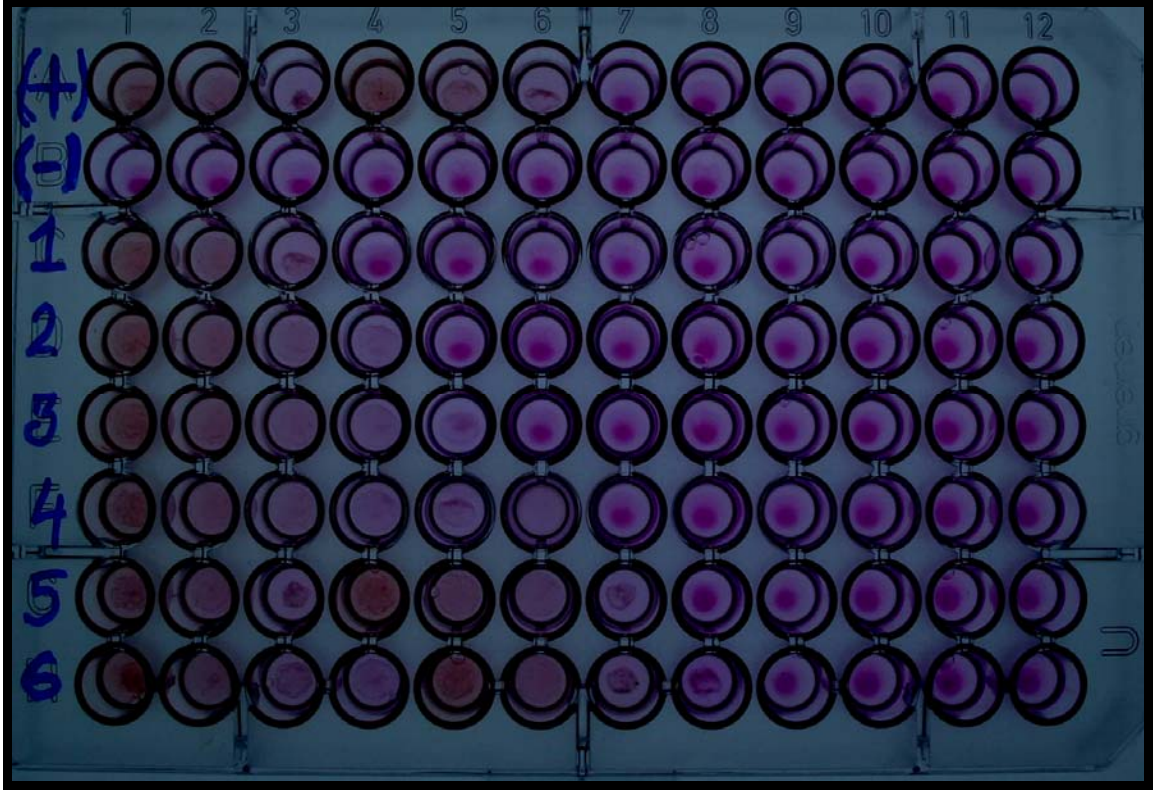
İncelenen 900 adet saha serumunun 791'i (% 87,9) negatif olarak belirlenir iken; 109'u (% 12,1) MAT ile pozitif olarak bulundu. Pozitif olarak belirlenen 109 saha serumunun 1/4 ile 1/1024 arasında farklı titrelerde oldukları tespit edildi. İncelenen tüm pozitif serumlar dikkate alındığında, MAT titresi ortalama 1/64 olarak belirlendi.



**Şekil 1.** Enzyme Linked Immunosorbent Assay (A1, A3, H11: Pozitif Kontrol Serum, A2, H10, H12: Negatif Kontrol Serum, A4: Hiperimmün Serum, A5-H9: Saha Serum Örnekleri)



**Şekil 2.** Lam Aglutinasyon Testi (solda Hiperimmün Serum, sağda negatif kontrol serum)



**Şekil 3.** Mikroaglutinasyon Testi (A: Hiperimmün Serumun; B: Negatif Serumun; C, D, E, F, G, H: 1, 2, 3, 4, 5, 6 No'lu saha serum örneklerinin konulduğu kuyucuklardır)

#### 4. 1. 2. Test Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi

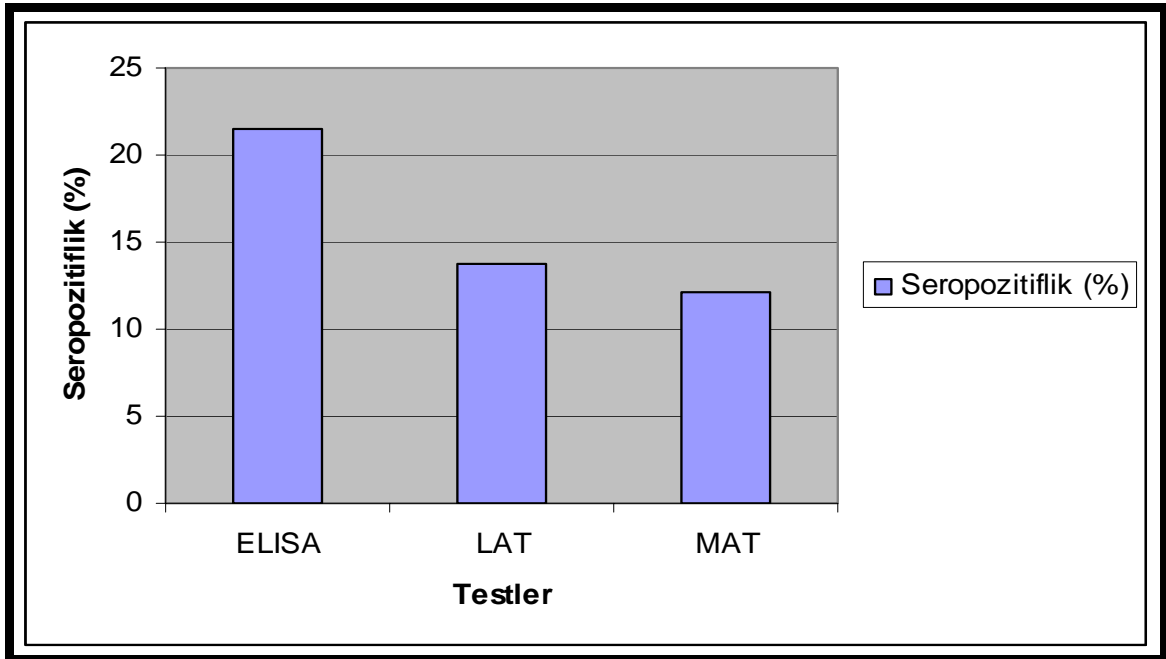
ELISA, LAT ve MAT ile incelenen toplam 900 hindi serumunun 194'ü ELISA ile (% 21,6), 124'ü (% 13,8) LAT ile, 109'u (% 12,1) ise MAT ile seropozitif olarak bulundu. ELISA, LAT, MAT'ne göre hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği Tablo 1'de; ELISA, LAT ve MAT'ne göre hindi serumlarında *B. avium* seropozitiflik oranlarının dağılımı Şekil 4'de verilmiştir.

**Tablo 1.** ELISA, LAT, MAT'ne göre hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği

TEST	Sayı (n/N)	Yüzde (%)
ELISA	194/900	21,6
LAT	124/900	13,8
MAT	109/900	12,1

n: Pozitif serum sayısı, N: İncelenen serum sayısı

**Şekil 4.** ELISA, LAT ve MAT'ne göre hindi serumlarında *B. avium* seropozitiflik oranlarının dağılımı





İncelenen hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden LAT'nin ELISA'ya göre sensitivitesi ve spesifitesi Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden LAT'nin ELISA'e göre sensitivitesi ve spesifitesi

	ELISA +, (%)	ELISA -, (%)	Toplam (%)
LAT +, (%)	86 (9,6)	38 (4,2)	124 (13,8)
LAT -, (%)	108 (12,0)	668 (74,2)	776 (86,2)
Toplam, (%)	194 (21,6)	706 (78,4)	900 (100)

Sensitivite: % 44,3; Spesifite: % 94,6; (PV -): % 86,1; (PV +): % 69,4;  
Doğruluk: % 83,8; Kappa=0,44; p<0,001

İncelenen 900 hindi serumununun 194'ü (% 21,6) ELISA pozitif, 124'ü (%13,8) LAT pozitif sonuç verdi. Her iki test pozitif 86 (% 9,6), negatif sonuç veren 668 (% 74,2), ELISA pozitif LAT negatif 108 (% 12,0), LAT pozitif ELISA negatif 38 (% 4,2) serum bulunmaktadır. Bu verilere göre, hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden, LAT'nin ELISA'ya göre sensitivitesi % 44,3; spesifitesi % 94,6 olarak hesaplandı. Çalışmada ELISA testi referans test olarak kabul edildiğinde LAT sonuçları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu (p<0,001). Ayrıca bu test ile ELISA arasında düşük derecede bir uyum elde edildi (kappa= % 44).

İncelenen 900 hindi serumunda *B. avium* seropozitifliği yönünden MAT'ın ELISA'ya göre sensitivite ve spesifitesi Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden MAT'ın ELISA'ya göre sensitivite ve spesifitesi

	ELISA +, (%)	ELISA -, (%)	Toplam (%)
MAT +, (%)	78 (8,7)	31 (3,4)	109 (12,1)
MAT -, (%)	116 (12,9)	675 (75,0)	791 (87,9)
<b>Toplam, (%)</b>	<b>194 (21,6)</b>	<b>706 (78,4)</b>	<b>900 (100)</b>

Sensitivite: % 40,2    Spesifite: % 95,6;    (PV -): % 85,3;    (PV +): %71,5;  
Doğruluk: % 83,6;    Kappa=0,42;    p<0,001

İncelenen 900 serumunun 194'ü (% 21,6) ELISA, 109'u (% 12,1) MAT pozitif sonuç verdi. Her iki test pozitif 78 (% 8,7), her iki test negatif 675 (% 75,0), ELISA pozitif MAT negatif 116 (% 12,9), ELISA negatif MAT pozitif sonuç veren 31 (% 3,4) serum bulunmaktadır. Bu verilere göre, hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden, MAT testinin ELISA'ya göre sensitivitesi % 40,2, spesifitesi % 95,6 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada ELISA testi referans test olarak kabul edildiğinde MAT sonuçları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001). Ayrıca bu test ile ELISA arasında düşük derecede bir uyum elde edildi (kappa= % 42).

İncelenen hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden LAT ve MAT'nin ELISA'ya göre Sensitivite, Spesifite, Negatif Prediktif Değer, Pozitif Prediktif Değer, Doğruluk ve Kappa değerlerinin toplu sunumu Tablo 4'de verilmiştir.

**Tablo 4.** Çalışma bulgularının toplu sunumu

TEST	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	(PV -) (%)	(PV +) (%)	Doğruluk (%)	Kappa (%)	P
LAT	44,3	94,6	86,1	69,4	83,8	44,0	0,001
MAT	40,2	95,6	85,3	71,5	83,6	42,0	0,001

## 4. 2. Tartışma

*B. avium*, genellikle hindi korizası olarak isimlendirilen “Bordetellozis” hastalığının etkenidir. Bordetellozis tıksırma, konjunktivitis, gözyaşı salgısında artış, iştahsızlık, kilo kaybı, depresyon, ses değişikliği, infraorbital sinuslarda şişmeler, solunum güçlüğü ve ölüm ile karakterize hindilerin üst solunum sisteminin oldukça bulaşıcı bir hastalığıdır. Bordetellozisin pek çok ülkede ekonomik önemi olan bir hastalık olduğu yapılan çalışmalar ile vurgulanmıştır (Andral ve ark., 1985; Glunder ve ark., 2004; Panigrahy ve ark., 1981; Saif ve ark., 1980; Van Alstine ve Arp, 1987; Yasphal ve ark., 2004).

Hindi korizasının tanısı klinik bulgular, etkenin üst solunum yollarında yapmış olduğu lezyonlar, etkenin izolasyonu ve serolojik testler ile konur. Görülen klinik semptomlar ile teşhise gitmek oldukça güçtür. Kesin teşhis için etkenin izolasyonu ve bu sonucun serolojik testler ile desteklenmesi gerekir (Lister ve Alexander, 1986; Simmons ve ark., 1979). Yapılan çeşitli çalışmalarda aşı titrelerinin, maternal antikoların, hastalık sonrası oluşan antikoların tespitinde ELISA (Barbour ve ark., 1991; Hopkins ve ark., 1990; Synder ve ark., 1983; Tsai ve Saif, 1991; Türkyılmaz ve Kaya, 2005) Mikroaglutinasyon Testi (Jackwood ve Saif, 1980; Ocak, 2005) ve Lam Aglutinasyon Testi (Türkyılmaz ve ark., 2006) gibi serolojik testler kullanılmıştır.

Özellikle kanatlı hayvanlarda solunum sistemi patojenlerinin kısa sürede teşhis edilmesi ve buna yönelik tedaviye en kısa sürede başlanması hastalıktan ileri gelen ekonomik kayıpların önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. *B. avium* infeksiyonları özellikle hindilerde havalarda soğumaya başladığı dönemlerde etkili olup, büyük ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (Glunder ve ark., 2004; Panigrahy ve ark., 1981; Saif ve ark., 1980). Bu nedenle, özellikle saha koşullarında infeksiyonun akut dönemlerinin kısa sürede tespit edilmesini sağlayacak olan, pratik olarak kullanılabilir bir LAT antijenin geliştirilmesi bu çalışmanın amaçlarından birisidir. *B. avium*'un izolasyonu zaman almaktadır (Blackall ve Farrah, 1985).

Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda bakteriyel izolasyon ile yüksek bir korelasyon sağladığı bildirilen MAT antijenin hazırlanması ve standardize edilmesi çalışmanın bir diğer amacıdır.

Bordetellozis'in özellikle erken dönemlerinde laboratuvar veya saha koşullarında kısa sürede ve ekonomik olarak belirlenmesini sağlayacak her çalışma maddi kayıpların önlenmesine büyük katkı sağlayacaktır. Bu çalışma ile oldukça hassas ancak, pahalı bir teşhis yöntemi olan ELISA yöntemine alternatif olarak enfeksiyonun özellikle erken dönemlerinde IgM antikorlarının (Diker, 1998) belirlenmesinde LAT ve MAT'nin kullanılması sağlanmıştır. Böylece, ucuz ve pratik iki alternatif teşhis yöntemi enfeksiyonun indirekt tanısında kullanılmıştır. Çalışmada ticari ELISA referans test olarak kabul edilmiş, ELISA ile LAT ve MAT'nin duyarlılıklarının karşılaştırılması da yapılmıştır.

*B. avium*' a karşı gelişen antikorların saptanmasında en çok kullanılan serolojik testler ELISA, IFAT ve MAT'dir. Son yıllarda *B. avium* antikorlarının tespit edilmesi amacıyla oldukça hassas olan ticari ELISA kitleri geliştirilmiştir. Bu araştırmanın amacı hindi yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı İzmir'de hindilerde *B. avium* antikorlarının seroprevalansının belirlenmesi olmamakla birlikte, yapılan serolojik testler sonucunda yöredeki seroprevalans de ilk kez bu kadar geniş kapsamlı araştırma ile % 21,6 olarak belirlenmiş oldu. Yapılan bir çalışmada, solunum sistemi hastalığı geçirmiş sürülerden bakteri izole edilememesine rağmen; *B. avium* antikorlarının serolojik olarak saptandığı bildirilmiştir (Slavik ve ark., 1981). Hopkins ve ark. (1988) Arkansas'ta yabani hindilerde ELISA ile % 95 oranında *B. avium* antikorlarını tespit etmişler, *B. avium*'un yabani hindiler için de önemli bir problem olabileceğini bildirmişlerdir. Yurt dışında *B. avium* antikorlarının ELISA ile belirlendiği pek çok çalışma olmakla birlikte, (Barbour ve ark., 1991; Hopkins ve ark., 1988; Neighbor ve ark., 1991; Slavik ve ark., 1981); Türkiye'de *B. avium* enfeksiyonunun durumunun belirlenmesine yönelik olarak sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan ilki Ocak (2005) tarafından gerçekleştirilmiştir. Ocak çalışmasında Türkiye'de *B. avium* tarafından oluşturulan hindi rhinotracheitis hastalığına karşı şekillenen antikorların tespitinde ilk kez ELISA, IFAT ve MAT testlerini karşılaştırarak, hastalığın indirekt

tanısında serolojik tekniklerin geçerliliklerini araştırmıştır. Hindi ve broyler olmak üzere toplam 1550 serumun incelendiği bu çalışmada ELISA ile % 22,9, MAT ile % 17,3 ve IFAT ile de % 14,0 oranında seropozitiflik saptandığı bildirilmiştir. Böylece, Türkiye’de *B. avium* antikorlarının indirekt tanısına ilişkin ilk veriler bu çalışma ile elde edilmiştir. Çalışmada en çok İzmir İl’inden temin edilen serumlarda seropozitiflik tespit edildiği de belirlenmiştir (Ocak, 2005). Yapılan başka bir çalışmada ise Aydın yöresinde ilk kez *B. avium* infeksiyonu yönünden hindilerin % 29,1’inin seropozitif olduğu tespit edilmiştir (Türkyılmaz ve Kaya, 2005). Kanatlı hayvanlarda *B. avium* antikorları yönünden seropozitiflik görülme oranı materyallerin alındığı coğrafi bölgenin konumuna, kanatlı hayvan hareketlerinin yoğunluğuna, iklim gibi faktörlere göre farklılıklar gösterebilir. Nitekim yakın denebilecek bir coğrafya içerisinde gerçekleştirilmiş olan bu çalışmalarda *B. avium* yönünden seropozitiflik oranları aşağı yukarı birbirlerine benzer olarak belirlenmiştir.

Barbour ve ark. (1991), hindilerin *B. avium* infeksiyonunun tespitinde ELISA metodunun sensitivite ve spesifitesini araştırmak için yaptıkları çalışmada bu testin sensitif olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, 6-11 haftalık infekte olmamış hindi sürülerinden topladıkları serumlarda seropozitiflik saptayamamışlardır. Ayrıca, ELISA’da *B. avium* antijenleri ile Newcastle virusu, hemorajik enteritis virusu, *Mycoplasma meleagridis* ve *E. coli* antijenleri arasında kros reaksiyon görülmediğinden hatalı pozitif sonuçlar da tespit edilmemiştir. Farklı hindi sürülerinden toplanan serum rnekleri ELISA ile test edildiğinde, *B. avium* pozitiflik yüzdesinde önemli bir farklılık bildirilmediğinden, metodun geçerli olduğu görülmüştür. Bu metodun çok spesifik, hatalı pozitif sonuç vermeyen, oldukça geçerli, farklı laboratuarlarda kullanılabilen bir test olduğu bildirilmiştir.

Hopkins ve ark. (1988), bir günlük yaştaki kanatlılardaki maternal antikorları, deneysel veya doğal olarak infekte olmuş hindilerde serum antikorlarını (IgG) tespit edebilen bir ELISA kiti geliştirmişler ve çok sayıda serum çalışılan laboratuarlarda için kullanımı kolay, güvenilir bir metot olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ELISA referans test olarak kabul edilmiştir. ELISA ve MAT sonuçları karşılaştırıldığında, incelenen toplam 900 hindi serumunun 194'ü ELISA ile (% 21,6), 109'u (% 12,1) ise MAT ile seropozitif bulunmuştur. Bu verilere göre, hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden, MAT'nin ELISA'ya göre sensitivitesi % 40,2; spesifitesi % 95,6 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada ELISA ile MAT sonuçları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0,001$ ) ayrıca bu test ile ELISA arasında düşük derecede bir uyum elde edilmiştir (kappa= % 42). Tsai ve Saif (1991), yaptıkları çalışmada bütün MAT pozitif serumları ELISA yöntemiyle de pozitif tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Fakat MAT'nin, maternal ve oluşmuş antikorların tespitinde ELISA'dan daha az duyarlı olduğu da bildirilmiştir. Bu çalışma ile benzerlik gösteren başka bir çalışmada ELISA ile MAT sonuçları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu ( $P < 0,001$ ), ancak iki test arasında yüksek derecede uyum (% 83,6) olduğu bildirilmiştir (Ocak, 2005). MAT'nin temel olarak IgM sınıfı antikorların, yani infeksiyonların akut dönemlerinin belirlenebildiği ve bakteriyel izolasyon ile oldukça uyumlu sonuçlar veren bir test olduğu bildirilmektedir (Hopkins ve ark., 1988). ELISA'da esas olarak IgG'ler tespit edilirken MAT ile IgM'ler tespit edildiğinden (Diker, 1988); MAT ile diğer iki testin arasında düşük korelasyon bulunması bu nedenle sürpriz olmamıştır. Primer immün cevapta öncelikle IgM'ler oluştuğundan MAT infeksiyonun akut dönemlerinde antikorları ELISA'dan daha önce tespit etmektedir (Hopkins ve ark., 1988). Bununla birlikte, inokulasyondan sonra yaklaşık olarak aynı zamanlarda alınan serumlarda hem MAT hem de ELISA ile seropozitifliğin belirlendiği bir çalışma da bulunmaktadır (Tsai ve Saif, 1991). Dolayısıyla infeksiyonun indirekt tanısında kan serumunun alındığı infeksiyon döneminin önemi büyüktür. Çalışmada MAT ve ELISA arasında düşük derecede bir uyum elde edilmiş olması ya da testler karşılaştırıldığında farklı sayılarda seropozitiflik elde edilmesinin nedeni bu testlerin mekanizmalarının yani testlerde tespit edilen Ig sınıflarının farklı olması şeklinde açıklanabilir.

Farklı yaşlarda ve farklı adjuvantlı inaktif *B. avium* aşısı kullanılarak immunize edilmiş hindilerde antikor yanıtını tespit edebilmek için yapılan başka bir çalışmada ise IgG için ELISA, IgM için ise MAT kullanılmıştır (Glunder ve ark., 2004). Hopkins ve ark. (1990), *B. avium*'a karşı serum antikorlarının saptanmasında tüm hücre antijeninin

kullanıldığı bir ELISA geliştirmişler ve elde edilen sonuçların MAT ile korelasyon sağladığını saptamışlardır. Ancak, araştırmacılar ELISA tekniğinin bir günlük kanatlılarda maternal antikorların saptanmasında daha duyarlı olduğunu da belirtmişlerdir. Aşılama yaşının etkisini görmek için yapılan bir çalışmada beş farklı hindi deneme grubu oluşturularak 1, 7, 10, 14 ve 21. günlerde kanatlılar deri altı yolla inaktif *B. avium* aşısıyla aşılanmışlar ve antikorları ELISA ile ilk kez 28. günlük yaşta tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışmada antikor titresinin 49. güne kadar devamlı olarak arttığı da bildirilmiştir (Glunder ve ark., 2004). McBride ve ark. (1991), ise yaptıkları çalışmada Kaliforniya'daki ticari hindi kümeslerinin bir mil çevresinde yerleşmiş bölgede bulunan kanatlılardan alınan kan serum örneklerini MAT yöntemiyle incelediklerinde, her kümeste *B. avium* antikorlarını tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Konu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise araştırmacılar ELISA, dot-immunblot ve MAT testlerini karşılaştırmışlar; *B. avium*'a karşı oluşan antikorları saptamada ELISA ve dot-immunblot testlerinin yeterince sensitif ve spesifik olduğunu, bu testlerin MAT'den daha üstün olduğunu vurgulamışlardır (Tsai ve Saif, 1991).

Yapılan çalışmalarda ortak olarak MAT sonuçlarının değerlendirilebilmesi için bir gece beklenilmesi, ELISA'nın MAT'ne göre daha kısa sürede (2,5 saatte) sonuç vermesi ve kullanım kolaylığı gibi nedenlerle ELISA'nın MAT'ne tercih edilebileceği bildirilmiştir (Tsai ve Saif, 1991; Ocak, 2005). Yaptığımız çalışmada da her ne kadar MAT yapılması kolay bir teknik olarak düşünülse de; MAT antijeninin hazırlanması, standardize edilmesi ve daha da önemlisi test sonuçlarının en erken bir gün sonra belli olması gibi nedenlerden dolayı pratik bir yöntem olmadığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, ELISA'nın pahalı ekipman gerektirmesi ve test maliyetinin MAT testinden yüksek olması testin en önemli dezavantajları olarak düşünülmektedir. ELISA'da sonuçların aynı gün değerlendirilmesine rağmen, MAT'inde sonuçların ertesi gün alınması, antiserum, diluent, antijen vb. biyolojiklerin laboratuvar tarafından hazırlanmasının gerekmemesi, günümüzde diğer virus ve bakterilerle kros reaksiyon oluşturmayan ticari ELISA kitlerinin kolaylıkla temin edilebilmesi gibi nedenlerden dolayı çok sayıda serum çalışılan laboratuvarlar için ELISA'nın pratik ve güvenilir serolojik bir test olduğu görülmüştür.

Sekonder bağlanma testlerinden olan klasik aglutinasyon testleri öncelikle IgM (daha sonra zayıf olarak IgG ve IgA); ELISA ise primer olarak IgG sınıfı antikorları saptamaktadır (Diker, 1988). Dolayısıyla, eğer kanatlılar *B. avium* ile yeni infekte olmuş ve henüz IgG sınıfı antikorlar oluşmamış ise ELISA'de negatiflik şekillenebilir. Aynı şekilde eğer kan alınan kanatlı hayvanlar infeksiyonun kronik dönemini yaşıyorlarsa aglutinasyon testlerinde negatiflik şekillenecektir. Buna ek olarak, maternal antikorlar IgG sınıfında olduklarından tespit edilmesinde ELISA kullanılması uygundur (Hopkins ve ark., 1988). Yapılan bu çalışmada yine bir aglutinasyon testi olan LAT ile primer bağlanma testlerinden olan ELISA'nın spesifite ve sensitiviteyi karşılaştırılmıştır. İncelenen 900 hindi serumunun 194'ü (% 21,6) ELISA pozitif, 124'ü (% 13,8) LAT pozitif sonuç verirken; hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden LAT'nin ELISA'ya göre sensitivitesi % 44,3; spesifitesi % 94,6 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada ELISA testi referans test olarak kabul edildiğinde, LAT sonuçları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0,001$ ) ayrıca bu test ile ELISA arasında düşük derecede bir uyum elde edilmiştir ( $kappa = \% 44$ ). Bu konu ile ilgili yapılmış fazla çalışma bulunmamakla birlikte, bizim çalışmamız ile çok benzerlik gösteren başka bir çalışmada (Türkyılmaz ve ark., 2006) benzer bir şekilde her iki test arasındaki farklılık önemli bulunmakla birlikte ( $P < 0,001$ ), korelasyon % 66,0; LAT'nin ELISA'ya göre sensitivitesi % 77,0 olarak bildirilmektedir.

Yapılan çalışmada incelenen 900 hindi serumunun 109'u (% 12,1) MAT, 124'ü (% 13,8) LAT'de pozitif olarak belirlenmiştir. Her iki test pozitif sonuç veren 92 (% 10,21), negatif sonuç veren 759 (% 84,3), MAT pozitif LAT negatif 17 (% 1,9), LAT pozitif MAT negatif 32 (% 3,6) serum bulunmaktadır. Bu verilere göre, hindi serumlarında *B. avium* seropozitifliği yönünden, bu testler arasında yüksek derecede bir uyum elde edilmiştir. Yüksek derecedeki bu uyumun ve testler arasında önemli bir farklılık görülmemesinin nedeni her iki testin aglutinasyon testi olması ve primer olarak IgM sınıfı antikorları tespit etmesi şeklinde açıklanabilir. Bu nedenle, çalışmanın sonucunda, MAT'nin yukarıda belirtilen dezavantajları nedeni ile (bir gün geç sonuç vermesi, antijen hazırlama prosedürünün daha uzun olması, standardizasyon gerektirmesi, v.s.) bu test yerine, LAT'nin kullanılmasının daha pratik olduğu düşünülmektedir.



Çalışmada İzmir İli'nde *B. avium* antikorlarının seroprevalensinin yüksek olduğu belirlenmiştir. MAT'nin geç sonuç vermesi nedeni ile pratik olmadığı, özellikle saha koşullarında akut infeksiyonların belirlenmesinde bir tüm hücre antijeni olan LAT'nin de oldukça kullanışlı olduğu, rahatlıkla uygulanabileceği; bununla birlikte serolojik olarak antikor yanıtının belirlenmesinde en duyarlı yöntemin ELISA olduğu sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada hindi korizasının teşhisinde en çok kullanılan serolojik test olan ELISA ile laboratuarda kendi imkânlarımız ile hazırlanan Mikroaglutinasyon ve Lam Aglutinasyon Testlerinin duyarlılıklarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Toplam 900 hindiden alınan serum örnekleri ELISA, LAT ve MAT yöntemleriyle incelenmesi sonucunda seroprevalens sırasıyla % 21,6, % 13,8, %12,1 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak; *B. avium* antikorlarının taranmasında en duyarlı test ELISA olmasına karşın; LAT ve MAT'nin de bu amaçla kullanılabilceği tespit edilmiştir. MAT ve LAT'leri arasında yüksek derecede bir uyum olması, LAT'nin daha pratik ve kısa sürede sonuç vermesi gibi nedenlerden dolayı da LAT'nin MAT'den göre daha kullanılabilir olduğu kanısına varılmıştır.

Çalışma ile ayrıca, İzmir İl'i gibi hindi potansiyelinin oldukça yüksek olduğu bir ilde *B. avium* antikorlarının varlığı serolojik olarak bu kadar geniş kapsamlı olarak ilk kez incelenmiş ve infeksiyonun yöredeki seroprevalensi de dolaylı olarak belirlenmiştir. İzmir İl'inde seroprevalensin yüksek çıkması nedeni ile solunum sistemi hastalığı semptomu gösteren hindilerin, diğer patojenler ile birlikte *B. avium* açısından da incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Hastalığın çabuk ve kesin teşhisi infeksiyonun eradikasyonu açısından önem taşımaktadır. Hastalık aerosol yolla da çabuk yayıldığından, ayrıca asemptomatik taşıyıcılar olabileceğinden gereken önlemler çok çabuk alınmalıdır. Bu aşamada çabuk sonuç veren ve pratik olarak kullanılabilcek olan LAT gibi testlerin önemi oldukça fazladır. Araştırma, yörede bordetellozis ile ilgili yapılacak bundan sonraki çalışmalar için bir ön araştırma niteliğinde olacaktır. *B. avium*'un sahadan izole edilmesi, izole edilen bu saha suşlarının antijenik yapılarının belirlenmesi, yine bu suşlardan faydalanılarak aşı çalışmalarının gerçekleştirilmesi, bu araştırmanın devamı olarak yapılabilecek diğer çalışmalardır.

## 6. ÖZET

Bu çalışmanın amaçları solunum sistemi hastalığı semptomu bulunan hindilerden *B. avium*'a maruz kalmış olanların serolojik olarak saptanması için lam aglutinasyon (LAT), mikroaglutinasyon (MAT) test antijenlerinin hazırlanması ve bu testlerin duyarlılıklarının ticari enzimle işaretli immün deneyi (ELISA) ile karşılaştırılmasıdır.

Çalışmanın materyalini oluşturan tüm serum örnekleri İzmir İl'i ve çevresinde bulunan, solunum sistemi problemi gösteren 900 ticari hindiden alınan kan serum örnekleri oluşturmaktadır. Seroprevalens ELISA, LAT ve MAT için sırasıyla % 21,6, % 13,8 ve % 12,1 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak, LAT ve MAT'leri ile ELISA arasındaki farkın önemli olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak, İzmir İli'nde ticari hindi işletmelerinde *B. avium* antikorlarının seroprevalensi yüksek olarak belirlenmiştir. *B. avium* antikorlarının taranmasında en duyarlı testin ELISA olmasına karşın; LAT ve MAT'lerinin de bu amaçla kullanılabilceği tespit edilmiştir.

Bu proje Türkiye Bilimsel Teknik ve Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir (TÜBİTAK Proje No: 106 O 268).

**ANAHTAR KELİMELER:** *B. avium*, Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay, Lam Aglutinasyon Testi, Mikroaglutinasyon Testi

## 7. SUMMARY

The aims of this study were to develop a serum plate agglutination test (LAT) antigen and microagglutination (MAT) test antigen for the serologic detection of turkeys that have been exposed to *B. avium* from with respiratory disease symptom and to compare sensitivity of commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with these tests.

All serum samples were collected from commercial turkey enterprises in İzmir, samples from 900 turkeys with symptoms of respiratory disease constituted the material of this study. The seroprevalence was determined as 21.6 %, 13.8 %, 12.1 % for ELISA, LAT, and MAT tests, respectively. The results showed that the difference of ELISA with LAT and MAT tests was statistically significant ( $P < 0.001$ ).

Consequently, our study showed that the seroprevalence of *B. avium* antibodies were found as high in commercial turkey enterprises in İzmir. Although ELISA was defined as the most sensitive test for screening of *B. avium* antibodies with this study, LAT and MAT's could also be used for this purpose.

This project was supported by the Scientific and Technical Research Council of Turkey (TÜBİTAK Project Number: 106 O 268).

**KEY WORDS:** *B. avium*, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Microagglutination Test, Plate Agglutination Test

## 8. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince ilgi ve yardımını hiç eksik etmeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman KAYA'ya, danışmanım Yrd. Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ'a, test sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesini yapan Yrd. Doç. Dr. Kenan TÜRKYILMAZ'a, deneme aşamasında yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. Setren TEKBIYIK'a, anabilim dalının diğer öğretim üyelerine ve çalışmam sırasındaki destek ve anlayışını benden esirgemeyen değerli eşime teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Ayrıca; Çamlı Yem Besicilik Tic. ve San. A.Ş.'ye araştırmada kullanılan kan serum örneklerinin temin edilmesindeki katkılarından dolayı, TÜBİTAK'a projeme maddi kaynak sağladıklarından dolayı teşekkür ederim.

## 9. KAYNAKLAR

**AKEILA, M.A. and Y.M. SAIF**, 1988. Protection of turkey poults from *Bordetella avium* infection and disease by pili and bacterins. Avian Dis, 32: 641-649.

**ANDRAL, B., C. LOUZIS, D. TRAP, J.A. NEWMAN, G. BENNEJEAN and R. GAUMONT**, 1985. Respiratory disease (rhinotracheitis) in turkeys in Brittany, France, 1981-1982. I. field observations and serology. Avian Dis, 29: 26-34.

**ARP, L.H. and N.F. CHEVILLE**, 1984. Tracheal lesions in young turkeys infected with *Bordetella avium*. Am J Vet Res, 45: 2196-2200.

**ARP, L.H. and S.M. MCDONALD**, 1985. Influence of temperature on the growth of *Bordetella avium* in turkeys and in vitro, Avian Dis, 29:1066-1077.

**ARP, L.H.**, 1986. Adherence of *Bordetella avium* to turkey tracheal mucosa: effects of culture conditions. Am J Vet Res, 47: 2618-2620

**ARP, L.H. and E.E. BROOKS**, 1986. An in vivo model for the study of *Bordetella avium* adherence to tracheal mucosa in turkeys. Am J Vet Res, 47: 2614-2617.

**ARP, L.H. and J.A. FAGERLAND**, 1987. Ultrasutritional pathology of *Bordetella avium* infection in turkeys. Vet Pathol, 24: 411-418.

**ARP, L.H. and D.H. HELWIG**, 1988. Passive immunization versus adhesion of *Bordetella avium* to the tracheal mucosa of turkeys. Avian Dis, 32: 494-500.

**ARP, L.H., E.L. HUFFMAN and D.H. HELWIG**, 1993. Glycoconjugates as components of receptors for *Bordetella avium* on the tracheal mucosa of turkeys, Am J Vet Res, 54: 2027-2030.

**BACK, A., G. HALVORSON, G. RAJASHEKARA and V.K. NAGARAJA**, 1998. Development of serum plate agglutination test to detect antibodies to *Ornithobacterium*

*rhinotracheale*. J Vet Diag Invest, 10: 84-86.

**BARBOUR, E.K., M.K. BRINTON, S.D. TORKELSON, J. B. JOHNSON and P. E. POSS**, 1991. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Bordetella avium* infection in turkey flocks: sensitivity, specificity and reproducibility. Avian Dis, 35: 308-314.

**BARNES, H.J. and M.S. HOFSTAD**, 1977. Turkey coryza: an emerging disease of young poult. J Am Vet Med Ass, 171: 1104.

**BARNES, H.J. and M.S. HOFSTAD**, 1983. Susceptibility of turkey poult from vaccinated and unvaccinated hens to *Alcaligenes rhinotracheitis* (turkey coryza). Avian Dis, 27:378-392.

**BECKER, L.E., D.H. CAMPBELL, F.J. DIXON, H. EISEN, P. GRABAR, J.H. HUMPHREY, E.A. KABAT, H.G. KUNKEL, M. MCCARTY, J. QUDIN and D PRESSMAN**, 1968. Methods in immunology and immunochemistry, Rockefeller University, Academic Pres, New York, USA.

**BLACKALL, P.J. and J.G. FARRAH**, 1985. Isolation of *Bordetella avium* from poultry. Aust Vet J, 62: 370-372.

**BLACKALL, P.J. and J.G. FARRAH**, 1986. An evaluation of two methods of substrate alkalization for the identification of *Bordetella avium* and other similar microorganisms. Vet Microbiol, 11: 301-306.

**BLACKALL, P.J. and C.M. DOHENY**, 1987. Isolation and characterisation of *Bordetella avium* and related species and an evaluation of their role in respiratory disease in poultry. Aust Vet J, 64: 235-239.

**BLACKALL, P.J. and D.G. ROGERS**, 1991. Absence of mouse-lethal toxins in Australian isolates of *Bordetella avium*. Vet Microbiol, 27: 393-396.

**BLACKALL, P.J., L.E. EAVES and M. FEGA,** 1995. Antimicrobial sensitivity testing of Australian isolates of *Bordetella avium* and the *Bordetella avium*-like organisms. Aust Vet J, 72: 97-100.

**BLORE, P.J., M.F. SLAVIK and N.K. NEIGHBOR,** 1991. Detection of antibody to *Bordetella avium* using a particle concentration fluorescence immunoassay (PCFIA). Avian Dis, 35: 756-760.

**BURKE, D.S. and M.M. JENSEN,** 1980. Immunization against turkey coryza by colonization with mutants of *Alcaligenes faecalis*. Avian Dis, 24: 726-733.

**BURKE, D.S. and M.M. JENSEN,** 1981, Field vaccination trials against turkey coryza using a temperature-sensitive mutant of *Alcaligenes faecalis*. Avian Dis, 25: 96-103.

**BURNS, E.H., J.M. NORMAN and M.D. HATCHER,** 1993 Fimbriae and determination of host species specificity of *Bordetella bronchicestica*. J Clin Microbiol, 31: 1838-1844.

**CIMIOTTI, W., G. GLUNDER and K.H. HINZ,** 1982. Survival of the bacterial turkey coryza agent. Vet Rec, 110: 304-306.

**COLLINS, M.S. and R.E. GOUGH,** 1988. Characterization of a virus associated with turkey rhinotracheitis. J Gen Virol, 69: 909-916.

**CONOVER W.J.,** 1999. Practical Nonparametric Statistics, John Waley Series, USA: 90-181.

**COOK, J.K.A., M.M. ELLIS and M.B. HIGGINS,** 1991. The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virus in turkey poult inoculated with the virus alone or together with two strains of bacteria. Avian Pathol, 20: 155-166.



- DİKER, K.S.**, 1998. İmmunoloji, Medisan Serisi, Ankara, Türkiye, S: 294-298.
- DILLMAN, R.C. and D.G. SIMMONS**, 1977. Histopathology of a rhinotracheitis of turkey poultts associated with adenovirus. *Avian Dis*, 21:481-491.
- DOMINGO, D.T., M.W. JACKWOOD and T.P. BROWN**, 1992. Filamentous forms of *Bordetella avium*: culture conditions and pathogenicity. *Avian Dis*, 36: 707-713.
- EDEN, F.W., F.M. MCCORKLE and D.G. SIMMONS**, 1984. Body temperature response of turkey poultts infected with *Alcaligenes faecalis*, *Avian Pathol*, 13: 787-795.
- FICKEN, M.D.**, (1983) Antibiotic aerosolization for treatment of alcaligenes rhinotracheitis. *Avian Dis*, 27: 545-548.
- FILION, P.R., S. CLOUTIER, E.R. VRANCKEN and G. BERNIER**, 1967. Infection respiratoire du dindonneau causee par microbe apparente au *Bordetella bronchiseptica*. *Can J Comp Med Vet Sci*, 31:129-134.
- GENTRY-WEEKS, C.R., B.T. COOKSON, W.E. GOLDMAN, R.B. RIMLER, S.B. PORTER and R. CURTISS**, 1988. Dermonecrotic toxin and tracheal cytotoxin, putative virulence factors of *Bordetella avium*. *Infect Immun*, 56: 1698-1707.
- GENTRY-WEEKS C.R., D.L. PROVENCE, J.M. KEITH and R. CURTISS**, 1991. Isolation and characterization of *Bordetella avium* phase variants. *Infect Immun*, 59: 4026-4033.
- GENTRY-WEEKS C.R., J.M. KEITH and J. THOMPSON**, 1993. Toxicity of *Bordetella avium* beta-cystathionase toward MC3T3-E1 osteogenic cells. *J Biol Chem*, 268: 7298-7314.
- GLUNDER, G., H. VAN DER VEN and A. FOULMAN**, 2004. Studies on the

efficacy of different adjuvants in live stock specific bacterial vaccines for turkeys against *Bordetella* infection and onset of antibody titers in respect to the age of the turkey poults. J Vet Sci, 7: 77-81.

**GOLDMAN, W.E.**, 1986. *Bordetella pertussis* tracheal cytotoxin: damage to the respiratory epithelium. In. Leive L and Bonventre PF (eds.), Microbiology, Washington DC, American Society for Microbiology, 65-69.

**GRAY, J.G., J.F. ROBERTS, R.C. DILLMAN and D.G. SIMMONS**, 1983. In vitro cytotoxicity of an *Alcaligenes faecalis* and its relationship in in-vivo tracheal pathologic changes in turkeys. Avian Dis, 27: 1142-1150.

**HAFEZ, H.M. and R. STING**, 1999. Investigation on different *Ornithobacterium rhinotracheale* "ORT" isolates. Avian Dis, 43: 1-7.

**HELWIG, D.H. and L.H. ARP**, 1990. Identification of *Bordetella avium* antigens recognized after experimental inoculation in turkeys. Am J Vet Res, 51: 1188-1191.

**HINZ, K.H., G. GLUNDER and H. LUNDERS**, 1978. Acute respiratory disease in turkey poults caused by *Bordetella bronchiseptica*-like bacteria. Vet Rec, 103: 262-263.

**HINZ, K.H., G. GLUNDER and H. LUNDERS**, 1981a. Acute respiratory disease in turkey poults caused by *Bordetella bronchiseptica*-like bacteria. Vet Rec, 103: 262-263.

**HINZ, K.H., G. KORTHAS, H. LUNDERS, B. STIBUREK, G. GLUNDER, H.E. BROZEIT and T. REDMANN**, 1981b. Passive immunisation of turkey poults against turkey coryza (Bordetellosis) by vaccination of parent breeders. Avian Pathol, 10:441-7.

**HINZ, K.H., G. GLUNDER and K.J. ROMER**, 1983. A comparative study of avian *Bordetella bronchiseptica*, *Alcaligenes faecalis* and other related nonfermentable bacteria. Avian Pathol, 12: 263-276.

**HINZ, K.H., M. RULL, H. HEFFELS-REDMANN and M. POEPEL,** 1992. Multicausal infectious respiratory disease of turkey poults. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 99: 75-78.

**HOFSTAD, M.S. and E.L. JESKA,** 1985. Immune response of poults following intranasal inoculation with Artvax™ vaccine and a formalin-inactivated *Bordetella avium* bacterin. *Avian Dis*, 29: 746-754.

**HOPKINS, B.A., J.K. SKEELES, G.E. HOUGHTEN and J.D. STORY,** 1988. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Bordetella avium*. *Avian Dis*, 32:353-361.

**HOPKINS, B.A., J.K. SKEELES, G.E. HOUGHTEN, D. SLAGLE and K GARDNER,** 1990. A survey of infectious diseases in wild turkeys (*Meleagris gallopavo silvestris*) from Arkansas (USA). *J Wildlife Dis*, 26: 468-472.

**HORROX, N.E.,** 1983. Field observations on *Alcaligenes* in turkeys. Proceedings of the 32<sup>nd</sup> Western Poultry Disease Conference, Davis, California, 58-59.

**HOUGHTEN, G.E., J.K. SKEELES, M. ROSENSTEIN, J.N. BEASLEY and M.F. SLAVIK,** 1987. Efficacy in turkeys of spray vaccination with a temperature-sensitive mutant of *Bordetella avium* (Art-Vax™). *Avian Dis*, 31: 309-314.

**JACWOOD, D.J. and Y.M. SAIF,** 1980. Development and use of microagglutination test to detect antibodies to *Alcaligenes faecalis* in turkeys. *Avian Dis*, 24: 685-701.

**JACWOOD, D.J. and Y.M. SAIF,** 1985. Efficacy of a commercial turkey coryza vaccine (Art-Vax™) in turkey poults. *Avian Dis*, 29: 1130-1139.

**JACKWOOD, D.J., Y.M. SAIF, P.D. MOORHEAD and R.N. DEARTH,** 1985. Further characterization of the agent causing coryza in turkeys. *Avian Dis*, 29: 690-705.

**JACKWOOD, M.W., M. SASSER and Y.M. SAIF**, 1986. Contribution to the taxonomy of the turkey coryza agent: Cellular fatty acid analysis of the bacterium. *Avian Dis*, 30:172-178.

**JACWOOD, D.J. and Y.M. SAIF**, 1987. Lack of protection against *Bordetella avium* in turkey poults exposed to *B. avium*-like bacteria. *Avian Dis*, 31:597-600.

**JACKWOOD, M.W., D.A. HILT and P.A. DUNN**, 1991. Observations on colonial phenotypic variation in *Bordetella avium*. *Avian Dis*, 35: 496-504.

**JACKWOOD, M.W., S. MCCARTER and T.P. BROWN**, 1995. *Bordetella avium*: an opportunistic pathogens in leghorn chicken. *Avian Dis*, 39: 360-367.

**JENSEN, M.M. and M.S. MARSHALL**, 1981. Control of turkey *Alcaligenes rhinotracheitis* in Utah with a live vaccine. *Avian Dis*, 25:1053-1057.

**KELLY, B.J., G.Y. GHAZIKHANIAN and B. MAYEDA**, 1986. Clinical outbreak of *Bordetella avium* infection in two turkey breeder flocks. *Avian Dis*, 30: 234-237.

**KERSTERS, K., K.H. HINZ, A. HERTLE, P. SEGERS, A. LIEVENS, O. SIEGMANN and J. DELEY**, 1984. *Bordetella avium* sp. nov isolated from the respiratory tracts of turkeys and other birds. *Int J Syst Bacteriol*, 34: 56-70.

**LEYH, R., R.W. GRIFFITH and L.H. ARP**, 1988. Transposon mutagenesis in *Bordetella avium*. *Am J Andt Res*, 49:958-964

**LEYH, R. and R.W. GRIFFITH**, 1992. Characterization of outer membrane proteins of *Bordetella avium*. *Infect Immun*, 60: 958-964.

**LISTER, S.A. and D.J. ALEXANDER**, 1986. Turkey rhinotracheitis: A review. *Vet Bull*, 56: 637-663.

**MCBRIDE, M.D., D.W. HIRD, T.E. CARPENTER, K.P. SNIPES, C. DANAYE-ELMI and W.W. UTTERBACK,** 1991. Healty survey of backyard poultry and other avian species located within one mile of commercial California meat-turkey flocks. *Avian Dis*, 35: 403-407.

**MCCORKLE, F.M., F.W. EDENS and D.G. SIMMONS,** 1985. *Alcaligenes faecalis* infection on turkeys. Effects on serum corticosterone and serum chemistry. *Avian Dis*, 29: 80-89.

**MORTENSEN, J.E., A. BRUMBACH and T.R. SHRYOCK,** 1989. Antimicrobial susceptibility of *Bordetella avium* and *Bordetella bronchiseptica*. *Antimicrob Agents and Chemother*, 771-772.

**NEIGHBOR, N.K., J.K. SKEELES, J.N. BEASLEY and D.L. KREIDER,** 1991. Use of an enzyme-linked immunosorbent assay to measure antibody levels in turkey breeder hens, eggs and progeny following natural infection or immunization with a commercial *Bordetella avium* bacterin. *Avian Dis*, 35: 315-320.

**OCAK, F.,** 2005. Kanatlı hayvanlarda *Bordetella avium*'a karşı oluşan antikorların MAT, IFAT and ELISA teknikleri ile saptanması. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 2:85-89.

**ÖZBEY, G. and A. MUZ,** 2006. Isolation of aerobic bacteria from the lungs of chickens showing respiratory disorders and confirmation of *Pasteurella multocida* by polymerase chain reaction (PCR). *Vet Arhiv*, 76: 217-225.

**ÖZDAMAR, K.,** 2001. SPSS ile Bioistatistik, Dördüncü baskı, Kaan Kitabevi, Ankara.

**PANIGRAHY, B., L.C. GRUMBLES, R.J. TERRY, D.L. MILLAR and C.F. HALL,** 1981. Bacterial coryza in turkeys in Texas. *Poult Sci*, 60: 107-113.

**PARDUE, S.L. and G.H. LUGINBUHL**, 1998. Improvement of poult performance following *Bordetella avium* challenge by administration of a novel oxy-halogen formulation. Avian Dis, 42: 140-145.

**QUINN, P. J., M.E. CARTER, B.K. MARKEY and G.R. CARTEY**, 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby-Year Book Europe Limited, Lynton House, London, England, 1994.

**RAFFEL, T., S. MARKS, K.B. REGISTER, S.A. MARKS and L. TEMPLE**, 2002. Prevalence of *Bordetella avium* infection in selected wild and domesticated birds in the eastern USA. J Wild Life Dis, 38: 40-46.

**RIMLER, R.B.**, 1985. Turkey coryza: Toxin production by *Bordetella avium*. Avian Dis, 29: 1043-1047.

**SAEB N.E.S., M. ASAD and M. AL-ATTAR**, 2002. Studies on the bacterial etiology of airsacculitis of broilers in northern and Middle Jordan with special reference to *Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, and *Bordetella avium*. Avian Dis, 46: 605-612.

**SAIF Y.M., P.D. MOORHEAD, R.N. DEARTH and D.J. JACKWOOD**, 1980. Observations on *Alcaligenes faecalis* infection in turkeys. Avian Dis, 24: 665-684.

**SANDER, J.**, 2005. Avian Bordetellosis,

Erişim adresi: [<http://www.merckvetmanual.com/mvm/htm/bc/206200.htm>]

Erişim tarihi: 08/04/2005.

**SAVELKOUL P.H.M., L.E. DEGROAT, C. BOERSMA, I. LIVEY, C.J. DUGGLEBY, B.A.M. VAN DER ZEIJST and W. GAASTRA**, 1993. Identification of *Bordetella avium* using the polymerase chain reaction. Microbiol Pathol, 15: 207-215.

**SIMMONS, D.G. and J.G. GRAY**, 1979. Transmission of acute respiratory disease (rhinotracheitis) of turkey. *Avian Dis*, 23: 132-1138.

**SIMMONS, D.G., J.G. GRAY, L.P. ROSE, R.C. DILLMAN and S.E. MILLER**, 1979. Isolation of an etiologic agent of acute respiratory disease (rhinotracheitis) of turkey poults, *Avian Dis*, 23: 194-203.

**SIMMONS, D.G., GORE, A.R. and E.C. HODGIN**, 1980. Altered immune function in turkey poults infected with *Alcaligenes faecalis*, the etiologic agent of turkey rhinotracheitis (coryza). *Avian Dis*, 24: 82-90.

**SIMMONS, D.C., C. DEES and L.P. ROSE**, 1986. A heat-stable toxin isolated from the turkey coryza agent. *Avian Dis*, 30: 761-765.

**SINGER, N., Y. WEISMAN and A. ARONOVICI**, 1981. Negative findings concerning *Alcaligenes faecalis* as an etiologic agent in acute respiratory disease of turkeys. *Avian Dis*, 25: 245-253.

**SKEELES, J.K., W.S. SWAFFORD, D.P. WAGES, H.M. HELLWIG, M.F. SLAVIK, J.N. BEASLEY, G.E. HOUGHTEN, P.J. BLORE and D. CRAWFORD**, 1983. Studies on the use of a long-acting oxytetracycline in turkeys: Efficacy against experimental infections with *Alcaligenes faecalis* and *Pasteurella multocida*. *Avian Dis*, 27: 1126-1130.

**SKEELES, J.K. and L.H. ARP**, 1998. Turkey bordetellosis (coryza). In: *Disease of Poultry*, 10<sup>th</sup> ed. BW Calnek, HJ Barnes, CW Beard, McDougald LR, Saif YM Jr., eds. Iowa state University Press, Ames, Iowa, USA, p:275-287.

**SLAVIK, M.F., J.K. SKEELES, , C.F. MEINECKE and L. HOLLOWAY**, 1981. The involvement of *Alcaligenes faecalis* in turkeys submitted for diagnosis as detected by bacterial isolation and microagglutination test. *Avian Dis*, 25: 761-763.

**SURESH, P. and L.H. ARP**, 1993. A monoclonal antibody-based latex bead

agglutination test for the detection of *Bordetella avium*. Avian Dis, 37: 767-772.

**SURESH, H.J., L.H. ARP and E.L. HUFFMAN**, 1994. Mucosal and systemic humoral immune response to *Bordetella avium* in experimentally infected turkeys. Avian Dis, 38: 225-230.

**SYNDER, D.B., W.W. MARQUAVDT and E. RUSSEK**, 1983. Rapid serological profiling by enzyme-linked immunosorbent assay. II. Comparison of computational methods for measuring antibody titer in a single serum dilution, Avian Dis, 27:474-484.

**TSAI, H.J. and Y.M. SAIF**, 1991. Detection of antibodies against *Bordetella avium* in turkeys by avidin-biotin enhancement of the enzyme-linked immunosorbent assay and the dot-immunobinding assay. Avian Dis, 35: 810-808.

**TÜRKYILMAZ, S. and O. KAYA**, 2005. Detection of antibodies *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Bordetella avium* by enzyme-linked immunosorbent assay in hens and turkeys in Aydın province of Turkey. Turk J Vet Anim Sci, 29: 897-902.

**TÜRKYILMAZ, S., TÜRKYILMAZ, K. and O. KAYA**, 2006. A comparative study on detection of *B. avium* antibodies in turkeys by ELISA, SPAT and AGID Tests. Turk J Vet Anim Sci, 30, 165-169.

**VAN ALSTINE, W.G. and M.S. HOFSTAD**, 1985. Antibiotic aerosolization: The effect on experimentally induced *Alcaligenes rhinotracheitis* in turkeys. Avian Dis, 29: 159-176.

**VAN ALSTINE, W.G. and L.H. ARP**, 1987. Effect of *Bordetella avium* infection on the pulmonary clearance of *Escherichia coli*. Am J Vet Res, 48: 922-926.

**VARLEY, J. and S.D. CARTER**, 1992. Characterization of the proteins of *Bordetella* isolated from turkeys in the UK by polyacrylamide gel electrophoresis. Avian Path, 21:



137-140.

**YASHPAL, S.M., O. KAREN, C. YOGESH and M.G. SAGAR**, 2004. Antimicrobial resistance in bacteriyel pathogens isolated from turkeys in Minnesota from 1998 to 2002.

Erişim

adresi:

[<http://www.jrnlappliedresearch.com/Andterinary/articles/Vol11ss3/Malik.htm>]

Erişim tarihi: 26/01/2004.

**YERSIN, A.G., F.W. EDENS and D.G. SIMMONS**, 1991. Tracheal cilia response to exogenous niacin in drinking water of turkey poults infected with *Bordetella avium*. Avian Dis, 35: 674-680.

## ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Mersin'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Mersin'de tamamladı. 1986 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandı ve 1991 yılında mezun oldu. Mezuniyetinden sonra bir yıl Mersin'de serbest Veteriner Hekim olarak çalıştı. Daha sonra İzmir Köy-Tür Damızlık İşletmeleri'nde Saha ve Damızlık Sağlık Kontrol Sorumlusu olarak (1992-1995), Mersin Güney Tavukçuluk İşletmeleri'nde Laboratuvar ve Damızlık Şefi olarak (1995-1997), İstanbul Alke - IED İlaç ve Aşı Firması'nda Kanatlı Aşılıları Danışmanı olarak (1997-1998) çalıştı. 1999 yılından bu yana Çamlı Yem ve Besicilik Sanayi ve Ticaret A.Ş.'nde Hayvan Sağlığı ve Kontrol Uzmanı olarak çalışmaktadır. 2002- 2004 yılları arasında Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında uzmanlık yaptı. Evli ve bir çocuk annesidir.