



**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YL-2024-0075**

**ENFEKSİYÖZ BURSAL HASTALIK
(GUMBORO HASTALIĞI) VİRUS AŞISI İLE AŞILANAN
CİVCİVLERDE VİRAL ANTİJEN LOKALİZASYONLARININ
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ**

**ZEYNEL AYDIN
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. NİHAT TOPLU**

T.C.

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PATOLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ENFEKSİYÖZ BURSAL HASTALIK (GUMBORO
HASTALIĞI) VİRUS AŞISI İLE AŞILANAN CİVCİVLERDE
VİRAL ANTİJEN LOKALİZASYONLARININ
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ**

ZEYNEL AYDIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nihat TOPLU

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 23005 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2024

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Zeynel AYDIN tarafından hazırlanan “Enfeksiyöz Bursal Hastalık (Gumboro Hastalığı) Virus Aşısı ile Aşılanan Cıvcivlerde Viral Antijen Lokalizasyonlarının İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 11/07/2024

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Nihat TOPLU	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	İmza
Üye	: Prof. Dr. Erkan KARADAŞ	Dokuz Eylül Üniversitesi	İmza
Üye	: Prof. Dr. Hamdi AVCI	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	İmza

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK
Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenim sürecimde bana yardımcı olan ve değerli bilgilerini benden esirgemeyen ve bundan sonraki hayatıma ışık tutan danışmanım Prof. Dr. Nihat TOPLU' ya emekleri ve gösterdiği ilgi için teşekkür ederiyorum ve şükranlarımı sunuyorum. Ayrıca katkılarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Recai TUNCA, Prof. Dr. Hamdi AVCI, Prof. Dr. Şule Yurdagül ÖZSOY ve Doç.Dr. Tuğrul EPİKMEN'e teşekkür ederim. Yüksek Lisans çalışmalarımın her aşamasında bana katkı sağlayan, yaptığım tüm uygulamalarda yardımcı olan ve değerli bilgilerini benimle paylaşan Dr. Öğretim Üyesi Ayşe Nur AKKOÇ' a özel olarak teşekkür ederim.

Bana hep güvenen ve yardımlarını esirgemeyen sevgili aileme ve hayatımı paylaşacağım Sultan SARITAŐ' a da bana hep güvendiğı ve hep yanımda olduğı için çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1 .GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etiyoloji	3
2.2. Virus Replikasyonu	5
2.3. Fiziksel ve Kimyasal Ajanlara Duyarlılık	7
2.4. Moleküler Genetik Tipler ve Gen Dizilimi	7
2.5. Antijenite	8
2.6. LABORATUVAR KONAK SİSTEMLERİ	9
2.6.1. Tavuk Embriyoları	9
2.6.2. Hücre Kültürü	10
2.7. Patojenite	12
2.8. İnsidans ve Dağılım	13
2.9. Doğal ve Deneysel Konakçılar	14
2.9.1. Taşınma ve Vektörler	15

2.9.2. Morbidite ve Mortalite	16
2.10. PATOLOJİ.....	17
2.10.1. Makroskobik Lezyonlar	17
2.10.2. Mikroskobik Lezyonlar	18
2.10.3. Ultrastrüktürel Değişiklikler	19
2.10.4. Patogenez	20
2.11. İmmünite.....	24
2.11.1. Aktif İmmünite.....	25
2.11.2. Pasif İmmünite	25
2.11.3. İmmüsupresyon	26
2.12. Tanı.....	27
2.12.1. Serolojik Tarama	29
2.12.2. İmmunohistokimya.....	29
2.12.3. Ayırıcı Tanı.....	31
2.12.4. Seroloji.....	32
2.13. Müdahale Stratejileri	33
2.14. Yönetim Prosedürleri	33
2.15. İmmünizasyon.....	34
2.16. Tedavi.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Gereç	39
3.1.1. Deney Hayvanları.....	39
3.1.2 Histopatolojik İnceleme.....	39
3.2. İmmunohistokimya	40
3.2.1. İmmunohistokimya İçin Antiserum Üretimi.....	40
3.2.2. Serum Aglütinasyon Testi	40
3.2.3. İmmunohistokimyasal Metot	41

4. BULGULAR.....	43
4.1. Nekropsi Bulguları	43
4.2 Histopatolojik Bulgular	44
4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular	50
5. TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	65
EKLER	78
BİLİMSEL ETİK BEYANI	79
ÖZ GEÇMİŞ.....	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AGP: Agar Jel Presipitasyon Testi

BALB/c 373: Murin Embriyonik Hücreleri

BALT: Solunum Sistemine İlişkin Lenfoid Doku

BGM-70: Yavru Grivet Maymun Böbrek Hücreleri

CAM: Koriyoallantoik Membran

CEF: Tavuk Embriyo Fibroblastları

CELO: Chicken Embryo Lethal Orphan

Cm: Santimetre

CMI: Hücre Aracılı Bağışıklık

DIVA: Differentiating Infected from Vaccinated

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ETY: Embriyolu Tavuk Yumurtası

FAT: Floresan Antikor Testi

FDA: Food and Drug Administration

FFTS: Fenollü Fizyolojik Tuzlu Su

GALT: Bağırsağa İlişkin Lenfoid Doku

Gr: Gram

HE: Hematoksilen Eozin Boyama

HVT: Hindi Herpes Virus

IBD: İnfeksiyöz Bursal Hastalık

IBDV: İnfeksiyöz Bursal Hastalık Virusu

ISH: In Stu Hybridization

IPNV: İnfeksiyöz Pankreatit Nekrozis Virus

LSAB: Labeled Streptavidin-Biotin Metot

mAB: Maternal Antikor

PBS: Fosfat Tamponlu Salin

RK-13: Tavşan Böbrek Hücreleri

RT-LAMP: Reverse Transcription Loop-Mediated İsothermal Amplification

RT-PCR/RFLP: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction/Subsequent Restriction Enzyme Analysis

SPF: Spesifik Patojen İçermeyen

VERO: Maymun Böbrek Hücreleri

VN: Virus Nötralizasyon Testi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. IBDV'nin morfolojik yapısı (Wagari, 2021)	3
Şekil 2. IBDV'nin patojenik ve immünosupresif yönlerinin bir özeti (Sharma ve diğerleri, 2000)	21

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1.** Serum aglütinasyon testi 41
- Resim 2.** İnterfolliküler alanın gevşek bir yapıda ve kollegen ipliklerde ayrılmalar ile karakterize ödem bulgusu, Bursa fabricius, HE 47
- Resim 3.** Hafif folliküler atrofi, folliküllerin merkezi kısımlarında hafif lenfoid boşalma, lenfositlerde tek tük karyopiknoz ile karakterize (+2) şiddetinde lezyon, Bursa fabricius, HE..... 47
- Resim 4.** Belirgin folliküler atrofi, folliküllerde göze çarpan şekilde lenfosit nekrozu ile lenfoid boşalma ile karakterize (+3) şiddetindeki bulgular, Bursa fabricius, HE 48
- Resim 5.** (+3) şiddetindeki lezyonun daha yakın büyütmedeki lenfositlerde karyopiknoz ve karyoreksis morfolojileri. Bursa Fabricius, İS 20. Gün. HE. 48
- Resim 6.** Lenfoid folliküllerdeki lenfositlerdeki nekrotik değişiklikler hemen follikülün tamamını kapsayarak folliküller atrofisinin çok daha belirgin hale geldiği ve buna interfolliküler fibröz doku proliferasyonunun eşlik ettiği (+4) şiddetindeki bulgular. Bursa Fabricius, İS 30.HE 49
- Resim 7.** Lenfoid nekroz ile birlikte folliküller atrofisinin ve de bağdoku interfolliküler fibröz doku proliferasyonunun daha da baskın hale geldiği (+4) şiddetindeki bulgular. Bursa fabricius, HE.....49
- Resim 8.** Viral antijenin olgunlaşmakta olan B lenfositlere sunulması ile sentroblastik, sentrositik ve plazma hücrelerin gelişim gösterdiği germinal merkez morfolojili primer follikül oluşumları, Dalak. 30. gün. HE. 50
- Resim 9.** IBD virus antijenin yalnızca fokal alanda yalnızca 1-2 follikülün medullar bölgesindeki lenfositlerin sitoplazmalarındaki (+2) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonlar, Bursa Fabricius. İS 3. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....54
- Resim 10.** IBD virus antijenin geniş bir alanda birçok follikülün medullar bölgesindeki lenfositlerde diffuz bir şekilde (+5) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonlar, Bursa fabricius. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....54

Resim 11. Resim 10'un daha yakın büyütmede görünümü, Bursa fabricius. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....55

Resim 12. IBD virus immunopozitifliğin (+5) şiddetinde, yaygın bir halde çok sayıda Lenfositlerdeki görünümü, Dalak. İS 20. gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....55

Resim 13. IBD virus antijenin medullar bölgede (+5) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonları, Timus. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....56

Resim 14. IBD virus antijenin lenfoid hücrelerde (+5) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonları, Timus. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....56

Resim 15. IBD virus antijenin öbekler halinde tubulus epitellerinde tutunum gösterdiği immunopozitif reaksiyonlar, Böbrek. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.....57

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Birnaviridae</i> Familyası.....	3
Tablo 2. İnokulasyon sonrası günlere göre Bursa fabricius ağırlık bilgilerini içeren tablo...	43
Tablo 3. İnokulasyon sonrası günlere göre Bursa fabricius boyut bilgilerini içeren tablo...	44
Tablo 4. Bursa fabricius ve dalak dokusunda görülen histopatolojik lezyonların şiddet derecesi	46
Tablo 5. Çalışmayı oluşturan dokularda meydana gelen immunpozitif reaksiyonların şiddet derecelendirmesi.....	53

ÖZET

Aydın Z. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji (Veteriner) Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2024.

Amaç: Bu tez çalışması, Infeksiyöz bursal hastalık atenué immunkompleks virusu (IBDV) ile aşılannmış civcivlerde şekillenen patomorfolojik değışiklikleri ve viral antijenin immunohistokimyasal dağılımını saptamak amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada IBDV aşısı ile aşılannmış 55 adet civcivin histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguları incelenmiştir. Hayvanlara 1, 3., 5., 10., 20., 30. ve 40.günlerde ötanazi uygulanmış, nekropsileri gerçekleştirilmiş, alınan doku örnekleri formol solüsyonunda tespit edilmiş ve alkollerde dehidre edilerek parafinde bloklanmıştır. Mikrotom ile 4 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilen ve eozin ile boyanarak ışık mikroskopik incelemeleri gerçekleştirilmiştir. İmmunohistokimyasal incelemede kullanılan IBDV antikoru, Yeni Zelanda Albino tavşanından elde edilmiştir. İmmunohistokimyasal inceleme için, seri kesitlere avidin-biotin immunoperoksidaz metodu uygulanmıştır.

Bulgular: Histopatolojik incelemede, Bursa fabricius'ta ödem ve lenfositlerde karyolizis, karyoreksis ve karyopiknozis ile karakterize nekrotik değışiklikler, dalakta ise aşı uyarımına ilişkin primer lenfoid folikül oluşumları gözlemlendi. İmmunohistokimyasal incelemede, IBDV antijeni en yoğun olarak Bursa fabricius, timus, kemik iliğı ve daha az olarak da dalakta tespit edildi.

Sonuç: Ülkemizde en sistemli hayvancılığın gerçekleştirildiğı kanatlı sektöründe IBDV aşısına ilişkin doku hasarlarının düzeyi ve rejeneratif yanıtın incelendiğı ve yorumlandığı bu çalışmada, elde edilen sonuçların klasik yüksek virulensli IBDV aşılara göre nekroz şiddetinin orta düzeyde kaldığı ve rejeneratif yanıtın da güçlü olduğı kaydedilmiştir. Dalaktaki antijenik uyarım ve B lenfosit aktivasyon alanlarını gösteren primer folikül oluşumlarının yeterli düzeyde görülmesi, hayvanların aşı virusuna iyi yanıt verdiğinin göstergesi olarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Aşılama, Civciv, Infeksiyöz Bursal Hastalık Virusunu (IBDV), İmmunohistokimya, Patoloji

ABSTRACT

Aydın Z. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Pathology (Veterinary) Master's Thesis, Aydın, 2024.

Objective: This thesis study aims to determine the immunohistochemical distribution of viral antigen and macroscopic and histopathological findings, in chicks vaccinated with Infectious bursal disease attenuated immunocomplex virus (IBDV).

Materials and Methods: In the study, histopathological and immunohistochemical findings of 41 chicks vaccinated with IBDV vaccine were examined. The animals were euthanized on the 1st, 3rd, 5th, 10th, 20th, 30th and 40th days, necropsies were performed, the tissue samples taken were fixed in formol solution, dehydrated in alcohols, and blocked in paraffin. Sections of 4 µm thickness were taken with a microtome and stained with hematoxylin and eosin for microscopic examination. The IBDV antibody used in the immunohistochemical examination was obtained from a New Zealand Albino rabbit. For immunohistochemical examination, the avidin-biotin immunoperoxidase method was applied to serial sections.

Results: In histopathological examination, edema and necrosis characterized by karyolysis, karyorrhexis and karyopyknosis in lymphocytes were observed in the bursa fabricius, and primary follicle formations related to vaccine stimulation were observed in the spleen tissue. In immunohistochemical examination, IBDV antigen was observed most intensely in bursa fabricius, thymus, bone marrow and to a lesser extent in spleen.

Conclusion: In this study, in which the level of tissue damage and regenerative response due to IBDV vaccine were examined and interpreted in the poultry sector, where the most organized animal husbandry is carried out in our country, it was noted that the severity of necrosis remained moderate and the regenerative response was strong compared to classical high virulence IBDV vaccines. Adequate levels of primary follicle formation showing antigenic stimulation and B lymphocyte activation areas in the spleen were considered as an indication that the animals responded well to the vaccine virus.

Key Words: Chick, Immunohistochemistry Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Pathology, Vaccination

1.GİRİŞ

Gumboro (İnfeksiyöz Bursal Hastalık), genç tavuklarda esas olarak Bursa fabricius'taki B-lenfositleri etkileyen ve bunun sonucunda şiddetli immunsupresyona neden olan akut, viral bulaşıcı bir hastalıktır (Killian ve diğerleri, 2017). Gumboro ilk kez 1962 yılında Amerika'nın "Deleware" eyaletinin Gumboro bölgesinde gözlemlendiği için hastalığa bu isim verilmiştir. Hastalık ilk zamanlarında enfeksiyona yenik düşen kanatlılarda ileri derecede böbrek lezyonları tespit edilmesi nedeni ile "avian nephrosis" olarak isimlendirilmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020). Gumboro hastalığına en duyarlı kanatlıların başında piliçler gelir. Ördekler, hindiler ve deve kuşları bu hastalığa karşı duyarlı olsalar bile klinik olarak dirençlidirler (Lukert ve Saif, 1997; McNulty ve diğerleri, 1979). Bu hastalığın ekonomik önemi kendini iki yolla gösterir; birincisi, bazı virus suşları 3 haftalık civcivlerde ve daha yaşlılarda %60'a varan ölümlere sebebiyet verebilir. İkincisi ve daha önemlisi, erken yaşta enfekte olanların uzun süreli immunsupresyondan kaynaklı sekonder enfeksiyöz hastalıklara karşı yatkınlığın artması ile kendini daha şiddetli şekilde belli etmektedir (Müller ve diğerleri, 2003; Eterradossi ve Saif, 2020). İnfeksiyöz Bursal hastalık virusu (IBDV) *Birnaviridae* familyasının *Avibirnavirus* genusunun üyesi olup zarfsız, onu dış ortama oldukça dirençli kılan çift iplikçikli RNA segmentinden oluşur (Boudaoud ve diğerleri, 2016). IBDV izolatları incelendiğinde antijenik özellikleri bakımından 2 farklı serotip tespit edilmiştir. Bunlar serotip 1 ve 2 olarak tanımlanmıştır (Sapats ve diğerleri, 2000). IBDV için beş viral protein belirlenmiştir. Bunlar sırasıyla VP1-VP2-VP3-VP4 ve VP5'tir. VP1, viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazdır. VP2, bir kapsid proteindir ve yapısaldır. Aynı zamanda kanatlıların koruyucu bağışıklığında en çok tercih edilen proteindir. VP3, yapısal bir protein olup diğer tüm virus partiküllerinin komponentleriyle etkileşime girer ve replikasyon, kapsüllenme ve morfogenezde kritik rol oynar. VP4, yapısal olmayan ve VP2 proteinlerinin olgunlaşmasında büyük rol oynar. VP5'in etkisi son zamanlarda anlaşılmış olup daha çok virusun saçılımında etkisi olduğu düşünülmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Virus birçok dezenfektana karşı direnç göstermektedir. Ph 12'de inaktive iken, Ph 2'de ise halen aktiftir (Akan, 2002). Hastalık genellikle üç haftalık yaştan küçüklerde subklinik seyreder. Enfeksiyon özellikle 3-6 haftalık yaş aralığında kritiktir. Çünkü bu dönemde maternal bağışıklık gerilemiş ve olgunlaşmamış B lenfositler gelişmekte olan Bursa fabricius' ta birikim göstermiştir. Enfektif hayvanlarda 2-3

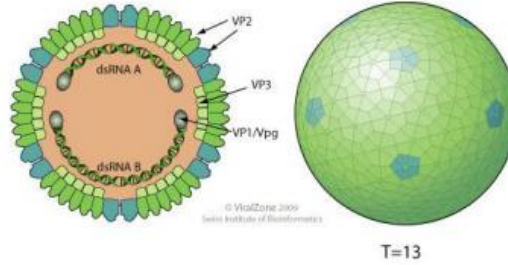
günlük inkubasyonu takiben halsizlik, ishal, tremor, inkoordinasyon, dehidrasyon gibi klinik belirtiler mevcuttur (Yeşilbağ, 2021). Makroskobik olarak, dehidrasyon, göğüs ve arka bacak kaslarında peteşiyal tarzda kanamalar, böbrek lezyonları(şişkindir) ve bağırsakta mukus artışı yaygın görülen lezyonlardandır. Bursa fabricius'ta enfeksiyonu takiben 3.günde, yangısal ödemden dolayı, boyut ve ağırlıkta artış meydana gelir. Bursa fabricius 4.gün itibariyle genellikle normal ağırlığının iki katına ulaşır ve ardından 8.günde normal ağırlığının yaklaşık olarak üçte birine ulaşır. Bazen Bursa fabricius plikaları boyunca yaygın tarzda peteşiyal ve ekimotik tarzda kanamalar gözlemlenebilir. Mikroskobik olarak, bursa foliküllerinin medullasında B lenfositlerin dejenerasyonu ve nekrozu görülür. Bunun haricinde hiperemi, heterofil infiltrasyonu ve şiddetli ödem mevcuttur. 4.haftadan itibaren yangısal reaksiyonun şiddeti azalır ve nekroz alanları fagosite edilerek temizlenir ve lenfoid foliküllerin medullasında kistik kavitasyonlar oluşur (Teshome ve diğerleri, 2015). Bursa fabricius'taki lezyonlar karakteristiktir, histopatolojik incelemelerle ile immunohistokimyasal incelemeler beraber kullanıldığında tanı doğrulanmaktadır. Özellikle "Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay" (ELISA) ve Virus Nötralizasyon testi (VN)" tanı amaçlı kullanılmaktadır (Jackwood ve Saif, 1987).

Klasik atenüe IBD virus aşısı da doğal IBD viruslar gibi, bu organlarda replike olarak özellikle Bursa fabricius'ta ciddi doku hasarına yol açarak immunsüpresyona neden olur. Bu immunsüpresyon başta infeksiyöz bronşitis (IB) ve diğer kanatlı patojenlerine karşı sürüyü duyarlı hale getirebilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Aşının bu olumsuz yönünü bertaraf etmek için bilim insanları, IBD virusunun VP2 antijen gen bölgesini, Marek aşısı virusunun (bir herpes virus) genine entegre edilmesiyle vektör aşılar geliştirilmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020; Zahid ve diğerleri, 2018). Önceki saha deneyimlerimiz ve literatür bilgiler çerçevesinde edindiğimiz veriler; sunulan tez çalışmasında yer alan immunkompleks IBDV aşısı ilk kez deneysel bir çalışmaya hipotez oluşturmuştur. Sunulan bu tez çalışması ile immunkompleks IBDV'u ile aşılansmış civcivlerde viral antijenlerin immunohistokimyasal lokalizasyonlarını histopatolojik bulgular eşliğinde belirlemek ve hastalığın patogenezisine katkılar sunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

İnfectious Bursal Disease Virus (IBDV), yaklaşık 55-60 nm çapında ikosahedral simetriye sahip, kapsüllü ve zarfsız bir virustur (Teshome ve diğerleri, 2015). IBDV, “*Birnaviridae*” familyasının “*Avibirnaviridae*” genusunun bir üyesi olup, çift sarmallı RNA yapısına sahiptir ve linear tarzda 2 segment (A ve B) içermektedir (Tablo 1, Şekil 1). A segmenti hedef organa tropizm taşırken, B segmenti ise virus replikasyonundan sorumludur (Teshome ve diğerleri, 2015; Zierenberg ve diğerleri, 2003).



Şekil 1. IBDV'nin morfolojik yapısı (Wagari, 2021).

Birnaviridae familyası tavuk, balık ve böcekleri etkileyen cinsleri de içermektedir (Teshome ve diğerleri, 2015).

Birnaviridae Familyasına ait genuslar ve etkiledikleri türler

Tablo 1. *Birnaviridae* Familyası

GENUS	TÜR	KISALTMA	ETKİNLENEN TÜR
Aquabirnavirus	İnfectious Pancreatic Necrosis Virus	IPNV	Balıklar, Yumuşakçalar ve Kabuklu deniz canlıları
Avibirnavirus	İnfectious Bursal Disease Virus	IBDV	Kanatlılar
Entomobirnavirus	Drosophila X Virus	DXV	Böcekler

IBDV izolatları incelendiğinde antijenik özellikleri birbirinden farklı iki serotipin varlığı tanımlanmıştır. Serotip 1 ve Serotip 2 olarak adlandırılan bu suşlar, virus nötralizasyon (VN) testi ve elektroforetik olarak birbirlerinden ayrılırken, floresan antikor testi (FAT), agar jel presipitasyon (AGP) ve ELISA ile birbirinden ayırt edilemezler (Sapats ve diğerleri, 2000).

Virus genomunun 5 adet viral polipeptidi mevcuttur. A segmenti VP2-5, B segmenti VP1 ile kodlanır. VP2 ve VP3 viriondaki en büyük yapısal proteinleri oluşturmaktadır. Bu nedenle VP2, kanatlıların koruyucu bağışıklığında en çok tercih edilen viral polipeptittir. VP1 proteini yaklaşık olarak 90 kD, VP2-VP5 proteinleri yaklaşık olarak sırasıyla 41 kD, 32 kD, 28 kD ve 21 kD moleküler ağırlığına sahiptirler (Akan, 2002, Lukert ve Saif, 1997).

VP1; viral RNA polimeraz olarak virionda az miktarda bulunur. Serbest poliprotein ve genoma bağlı poliprotein olarak bulunur ve diğer viral RNA polimerazlar gibi orjinal bir organizasyon sergiler (Kibenge ve Dhama, 1997; Eterradossi ve Saif, 2020). Viral partiküllerin kapsüllenmesinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir (Killian ve diğerleri, 2017).

VP2; bir kapsid proteinidir (Eterradossi ve Saif, 2020). Antikorların nötralizan antikor oluşumunu sağlayan ve serotipe özgüllüğü sağlayan antijenik alanlar içerir (Fahey ve diğerleri, 1989). Yüksek düzeyde hidrofobik olup tüm nötralizan edici monoklonal antikorların immunopresipitasyon reaksiyonlarında gözlenebilir, fakat Western Blotta gözlenmez (Oppling ve diğerleri, 1991a, Schnitzler ve diğerleri, 1993, Van den Berg ve diğerleri, 1996).

VP3; diğer tüm virus partiküllerinin komponentleriyle etkileşime girer ve virionlarla birlikte replikasyon, kapsüllenme ve morfonogenezde kritik rol oynar. VP3 virionun yüzeyinde serbest halde kalmaz aksine dsRNA ile filamentli yapılara sıkıca bağlıdır ve viral polimeraz aktivitesini destekler. VP3 C-terminal aminoasitlerini içerir ve bu durum VP2'nin uygun simetri ile kapsidlere doğru birleştirilmesinde yine kritik öneme sahiptir (Eterradossi ve Saif, 2020). Nötralizan etmeyen antikorlar tarafından grup spesifik antijen olarak tanınır ve her iki serotip 1 ve serotip 2 içinde kros reaksiyon verir (Becht ve diğerleri, 1988; Oppling ve diğerleri, 1991a).

VP4; küçük ve yapısal olmayan bir polipeptiddir. Viral proteaz olarak VP2a, VP3 ve VP4'ün üretilmesinde görev alır (Azad ve diğerleri, 1987). Bilinen diğer proteazlar ile küçük benzerlikler göstermesine rağmen, spesifik proteolitik aktivitesi tespit edilmiştir (Hudson ve diğerleri, 1986). Özellikle VP2 kapsid proteinlerinin maturasyonunda büyük rol oynamaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020).

VP5; ilk kez IPNV (infectious pancreatic necrosis virus) partiküllerinde tanımlanmıştır (Haverstein ve diğerleri, 1990). Yapılan çalışmalarda IBDV ile enfekte hücrelerde identifikasyonu yapılmıştır (Mundt ve diğerleri, 1995). Viral yapıya katılımı ile ilgili bir net bilgiler henüz mevcut değildir. Bu viral protein daha çok düzenleyici fonksiyona sahip olup virusun içinde bulunduğu hücreyi yıkımlayıp dışarı salınımı ve yayılmasında anahtar rol oynamaktadır (Mundt ve diğerleri, 1997). VP5'in virusu serbestleştirme ve yayılmasındaki düzenleyici faktörünün yanı sıra enfeksiyonun erken evrelerinde anti-apoptotik fonksiyonu da mevcuttur (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.2 Virus Replikasyonu

Birnavirus'ların replikasyonu ile ilgili biyokimyasal reaksiyonlar hakkında çok az şey bilinmektedir. Çalışmalar virusun, inokulasyonundan 75 dakika sonra tavuk embriyo böbrek hücrelerine tutunduğunu göstermiştir. Tavuk embriyo hücrelerinde virusun çoğalma siklusu 10-36 saattir ve latent periyod 4-6 saattir. Vero ve BGM-70 hücrelerinde daha uzun (48 saat) bir çoğalma siklusu bildirilmiştir. Viral polipeptidler, in vitro olarak üretilen tavuk bursal lenfoid hücrelerinde ve kültür ortamlarında, enfeksiyondan sonra sırasıyla 90 dakika ve 6 saatte saptanmıştır (Akan, 2002; Lukert ve Saif, 1997).

Serotip 1 ve 2 IBDV, farklı hücre tipleri üzerinde her iki serotip için ortak olan ve serotipe özgü olan birkaç reseptör kullanabilir. Bununla birlikte, Vero hücrelerine uyarlanmış veya adapte edilmemiş IBDV suşlarının aynı reseptöre bağlandığı gösterilmiştir. Bu, hücre kültüründe çok virulent (vvIBDV) IBDV'nin hazırlanmasına yönelik bazı engellerin bağlanma aşamasının ötesinde mevcut olabileceğini düşündürmektedir. Virulent IBDV için reseptör, IgM taşıyan olgunlaşmamış B lenfositlerde eksprese edilen bir N-glikozil içeren bir membran proteindir. Yüzey IgM tavuk ısı-şok proteini 90 α ve α 4 β 1 integrin heterodimerinin λ hafif zinciri, sırasıyla Avian DT40, Avian DF1 ve Murin 3T3 hücre dizilerinde IBDV reseptörünün parçaları olarak tanımlanmıştır. α 4 β 1 integrini, tüm IBDV suşlarında VP2'nin maruz kalan bölgesinde korunan bir integrin bağlama motifi ile etkileşime gir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Bağlı IBDV partiküllerinin içeriye alınması, birkaç hücresel faktöre bağlı olan klatrin-bağımsız bir endositoz mekanizması ile gerçekleşir. Ca²⁺ iyonlarının virüs partikülünün yapısı üzerinde stabilize edici bir etkisi vardır. Endozomal ortamdaki düşük konsantrasyonları, virus partikülünün kompakt yapısının kaybını tetikler ve "pep46" salınımını teşvik eder. Pep46, IBDV infektivitesi için kritik bir süreç olan porlar oluşturarak endozomal membranın dengesini daha da bozmaktadır (Etteradossi ve Saif, 2020).

İnfeksiyöz Bursal Hastalık virusu ile enfekte olmuş Bursa fabricius' ta viral replikasyon, lenfoid hücrelerin apoptozu, yangısal değişiklikler ve atrofi ile ilişkilidir (Killian ve diğerleri, 2017).

Viral RNA sentezinin mekanizması tam anlaşılmamış olmakla birlikte bir dsRNA-bağımlı RNA polimeraz, VP1-5 proteinler ve genom-bağılı proteinlerin rol oynadığı gösterilmiştir. Bu durum da virusun bir iplik değiştirme mekanizması ile nükleik asidini kopyaladığını göstermektedir. IBDV bir “kopyalama” mekanizması ile tamamlayıcı bir zincirin sentezini başlatmak için bir IBDV pozitif iplik şablonunun yeni sentezlenen RNA bölgelerini spesifik olarak kullanır. Bu durum da transkripsiyon ve replikasyonun, virusun kapsid dışına çıkmadan hücre penetrasyonunun ardından meydana geldiğini göstermektedir. Poliadenile edilmemiş mRNA'ların, muhtemelen IBDV kapsidinde beş katlı simetrik eksende yer alan porlardan eksprese edildiği varsayılmıştır (Etteradossi ve Saif, 2020).

VP1 ve ökaryotik translasyon başlatma faktörü 4AII arasında bir etkileşim mevcuttur; bu ilişki VP1'in RNA translasyonunda da rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Enfekte hücrelerde poliprotein birikiminin olmaması, onun eş-çeviri bölünmesini düşündürür. Halihazırda IBDV partiküllerinin yerleşimi viral proteinler kapsamaktadır; VP1 büyük olasılıkla önce başka bir *birnavirus* olan IPNV'de açıklandığı gibi virus RNA'sı ile etkileşime girer. VP3 daha sonra Pvp2, VP1 ve viral genomla etkileşime girer, böylece virion morfonogenezi ve kapsüllenmesinde kritik bir şaperon rolü oynar. Pvp2'nin son karboksi-terminal peptitlerinin seri bölünmesiyle nihai olgunlaşması, virus kapsidi içinde gerçekleşir (Qin ve Zheng, 2017; Etteradossi ve Saif, 2020).

Virus partikülleri, enfekte olmuş hücrelerin sitoplazmasında birikir. Bu, VP5'in kaspazlar ve NF-KB yollarına müdahale ederek enfeksiyonun erken evrelerinde apoptozu önlemesi ile bilinir. Bununla birlikte, VP5 ve/veya VP2'nin, enfekte hücrelerde apoptozu indüklediği de rapor edilmiştir. Enfekte hücrelerin zarında VP5 aracılı por oluşumu, virus salınımına katkıda bulunacaktır (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.3. Fiziksel ve Kimyasal Ajanlara Duyarlılık

Virus dezenfektanlara karşı uzun süre dirençlilik gösterebilme özelliğine sahiptir. Etken, eter ve kloroform ile muameleye dirençli bulunmuş, pH 12'de inaktive edilmiş, pH 2'de etkilenmemiştir. 6 °C'de 5 saat, 60 °C'de 30 dakika canlılığını korur. Virus, 30 °C'de 1 saat %0,5'lik fenol ve %0.125'lik thimerosaldan etkilenmemiştir. Virus infektivitesinde 6 saat boyunca %0,5'lik formalin uygulandığında önemli bir azalma gözlenmiştir. Buna karşın formalin, kloramin ve iyot bileşikleri IBDV'ye etkin bulunmuştur (Akan, 2002; Lukert ve Saif, 1997).

Fumigant olarak metil izotiyosiyanatlı bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarını içeren, %0.05 sodyum hidroksitli ticari sabunlarla 1 saat temas sonucunda kontamine altlıktaki IBDV'yi inaktive edebildiği ya da virusu güçlü bir şekilde inhibe ettiği gözlemlenmiştir. 70, 75 ve 80 °C'de ısıtılan bursal homojenatlarda IBDV, sırasıyla 18.8, 11.4 ve 3 dakika dayanabilmiştir. FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanan maksimum seviye olan 3.0 kikogray gama ışınması, aşının veya veya patojenik IBDV suşlarının titresini önemli ölçüde azaltmadığı kaydedilmiştir. Bu virusun dayanıklı yapısı, kapsamlı temizlik ve dezenfeksiyon prosedürleri izlendiğinde bile kalıcı kalmasının bir nedenidir (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.4. Moleküler Genetik Tipler ve Gen Dizilimi

IBDV'nin farklı izolatlarını gruplamak için genetik teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler, duyarlılıkları, zaman kazanımları, ham veya inaktive numuneler üzerinde kullanılabilirleri nedeniyle popüler hale gelmiştir. En yaygın olarak kullanılan prosedür, çoğunlukla "VP2 değişken alanını" kodlayan genomik bölgeye uygulanan ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu/baskılayıcı enzimi parça uzunluğu polimorfizmlerdir (RT-PCR/RFLP). IBDV suşlarının segment B kısıtlama profillerine göre moleküler gruplandırılması için bir RT-PCR/RFLP yaklaşımı da uygulanmaktadır. Halihazırda tarif edilen moleküler gruplar, antijenik veya koruyucu gruplara karşılık gelmemektedir ve bu sınıflandırmanın önemini yorumlarken dikkatli olunmalıdır (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.5. Antijenite

IBDV'nin virus nötralizasyon testi ile iki serotipi belirlenmiştir. Serotip 1 patojenik suşu içermektedir. Serotip 2 hindilerden izole edilmiş olup hastalığa neden olmadığı gibi tavuklarda serotip 1'e karşı korumayı da sağlamamaktadır. Antijenik varyant suşlar Amerika'da bildirilmiştir (Synder ve diğerleri, 1988). Orta Amerika (Jackwood ve Sommer, 1999) ve Avustralya'da (Spats ve Ignjotovic, 2000) tespit edilen vakalar bulunmaktadır. VP2'de bulunan antijenik bölge antikorların nötralizasyonunu uyarmaktadır (Becht ve diğerleri, 1988; Heine ve diğerleri 1991). Serotip 1 içinde nükleotid ile karşılaştırıldığında VP2'nin kodlandığı bölgede farklılıklar olduğu ve değişken VP2 (hyper) bölge olarak tasarlandığı gözlenmektedir (Bayliss ve diğerleri, 1990). Bu durum kaçak mutantların gelişimini (Oppling ve diğerleri, 1991a) açıklamaktadır. Grup ve nötralize olmayan serotip spesifik epitoplara temel olarak VP3'te lokalize olmuştur (Oppling ve diğerleri, 1991b). VP2'nin değişimleri ile ortaya çıkan IBDV suşları Avrupa, Afrika ve Asya'da aynı zamanda ortaya çıkmış olup aynı grupta yer aldığı (Cao ve diğerleri, 1998; Chen ve diğerleri, 1998; Pitccovski ve diğerleri, 1998; Zierenberg ve diğerleri, 2001), antijenik ve genetik yapılarının benzerlikler gösterdiği tespit edilmiştir (İslam ve diğerleri, 2001a).

IBDV serotip 1 ve 2 arasında sadece %30 oranında antijenik bir akrabalık vardır. Hatta serotip 2'nin iki suşu arasında sadece %33'lük bir antijenik ilişki rapor edilmiştir, bu durum da serotip 1 viruslerinininkine benzer bir antijenik çeşitliliği gösterir (McNulty ve diğerleri, 1988).

İki serotip, virüs nötralizasyon (VN) testleri ile ayırt edilebilirken, floresan antikor testleri veya Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) ile ayırt edilemez. Serotip 2'ye karşı bağışıklık, tekrar serotip 1'i korumaz (Ismail ve diğerleri, 1988). Tersini durum için aynı şekilde bahsedilemez çünkü saha da virulent bir serotip 2 yoktur. Serotip 2'nin ilk izolatları hindilerden kaynaklanmıştır, ancak sonraki çalışmalar serotip 2 viruslarının tavuklardan da izole edilebileceğini ve serotip 2 IBDV'lere karşı antikorların hem tavuklarda hem de hindilerde yaygın olduğunu göstermiştir (Jackwood ve diğerleri, 1982; Ismail ve diğerleri, 1990; Saif, 1984).

Serotip 1'in varyant virusları tanımlanmıştır (Rosenberg ve Cloud, 1985; Saif, 1984). O sırada mevcut olan aşı suşları, orijinal serotip 1 izolatlarından (şu anda klasik viruslar olarak adlandırılır) antijenik olarak farklı olan varyantlara karşı tam koruma sağlamamaktadır. 13 serotip, 1 aşı veya saha suşu arasında çapraz nötralizasyon ile 6 alt tip ayırt edilmiştir. Alt tiplerden biri, varyant izolatlarının tümünü içermektedir. Maternal antikorlar (mAB) kullanılarak, alanda serotip 1 viruslarında büyük bir antijenik kaymanın oluşabileceği

gözlenmiştir. Sıralama çalışmaları, varyant viruslarında gözlemlenen antijenik değişikliklerle ilişkili olan “VP2 hidrofilik tepe noktalarında” birkaç aminoasit değişikliği tanımlanmıştır. Varyant virusları çağrıştıran Avustralya ve Avrupa suşları da tanımlanmıştır ancak bunlar genetik ve antijenik olarak Kuzey Amerika varyant viruslarından farklıdır. Antijenik varyasyonun çapraz koruma üzerindeki etkisi, bu Avustralya ve Avrupa virusları için daha az belgelenmiştir (Etteradossi ve Saif, 2020).

İlk olarak Avrupa’da tanımlanan vvIBDV (yüksek derecede patojenik) suşlarının, klasik serotip 1 viruslarına antijenik olarak benzer olduğu gösterilmiştir. Yani, şu anda iyi belgelenmiş olarak 3 antijenik tip vardır. Bunlar klasik (standart) ve varyant serotip 1 ve serotip 2 viruslarıdır. Bu 3 antijenik tipin alt tipleri de mevcuttur (Abdel-Alim ve Saif, 2001; Box, 1989; Chettle ve diğerleri, 1989; Etteradossi ve diğerleri, 1992).

2.6. LABORATUVAR KONAK SİSTEMLERİ

2.6.1. Tavuk Embriyoları

Başlangıçta, çoğu bilim insanı virüsü izole etmekte ve tavuk embriyolarını kullanarak virüsü seri olarak pasajlamakta güçlük çekiyorlardı. Devamında gelen çalışmalar, bu zorlukları azaltabilecek üç faktörü ortaya çıkardı; 1-Hastalıktan kurtarılan sürülerden elde edilen embriyolu yumurtalar, virüsün gelişmesine karşı oldukça dirençliydi, 2- Erken virus geçişinde, allantoembriyonik sıvı (AAF) çok düşük virus içeriğine sahipken, korioallantoik membran (CAM) ve embriyo çok daha yüksek ve neredeyse eşit virus içeriğine sahipti, 3- Aşılama yolları olarak allantoik kese, vitellüs kesesi ve CAM’ın karşılaştırılmasında virüs titreleri bakımından korioallantoik membran diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur (Karadaş ve Metin, 1994; Etteradossi ve Saif, 2020). Embriyoya uyarlanmış bir virüsün, inokulasyondan 72 saat sonra tepe noktasına çıktığı bildirilmiştir. Virüsün 10 günlük embriyonlaşan yumurtalara enjeksiyonu, inokulasyondan 3 ila 5 gün sonunda ölümle sonuçlanmaktadır (Etteradossi ve Saif, 2020). Embriyoda gözlenen lezyonlar, karın bölgesinin ödemi, özellikle tüy yolları boyunca kutanöz tıkanıklıklar ve peteşiyel kanamalar, karaciğerde küçük odaklar şeklinde nekrozlar ve son aşamalarında ekimotik kanamalar, kalbin soluk “yarı kaynatılmış” görünümü, böbreklerde obstrüksiyon ve koagülasyon nekrozu gözlenmiştir (Etteradossi ve Saif, 2020). CAM’da plak oluşumu gözlenmemiştir ancak zaman zaman küçük hemorajik alanları görmek mümkündür (OIE, 2004; Abdel-Alim ve Saif, 2001; Rosenberg ve diğerleri, 1985a).

Virus, kanatlı ve memeli eritrositlerini hemaglutine etme özelliğine sahip değildir. IBDV virusunu embriyolu tavuk yumurtasında (ETY) ve doku kültüründe üretmek olasıdır. İzolasyonda kullanılacak ETY'lerinin IBD yönünden aşısız ve hastaliksız tavuklardan elde edilmesi oldukça önem arz etmektedir. Virusu üretmede inokulasyon için ETY'lerin koriyo allantoik membranı en duyarlı, vitellüs kesesi (yumurta sarısı) orta ve koriyo allantoik kese ise az duyarlıdır. Virus izolasyonu amacıyla kullanılan embriyolu yumurtaların embriyolarında, inokulasyondan sonra 3. günden 5. güne kadar ölümler görülmektedir. Embriyoda gözlemlenen makroskopik lezyonlar, abdominal bölgenin ödematöz şişkinliği, kutanöz konjesyon ve özellikle de tüy yolları boyunca şekillenen peteşiyal kanamalar, ayak eklemlerinde ve serebral bölgede ender olarak görülen kanamalar, karaciğerde benekli görünümde nekroz ve ekimotik kanamalar, kalbin yarı pişmiş bir görünüm alması, böbreklerde koagülasyon nekrozu ve konjesyon, akciğerlerin aşırı konjesyonu ve nadiren küçük nekrotik odaklı, solgun dalak olarak gözlenmektedir. CAM'da plaklar genellikle bulunmaz ancak bazen hemorajik alanlar tanımlanabilir. IBDV varyantları tarafından embriyolarda oluşturulan lezyonlar standart izolatlar tarafından oluşturulardan farklılık gösterir. Varyant suşlar, dalakta büyümeye ve karaciğerde nekroza neden olur, ancak embriyolardaki ölüm oranı daha düşüktür (Akan, 2002, Lukert ve Saif, 1997).

IBDV varyantları tarafından embriyolarda indüklenen lezyonlar, klasik suşlara nazaran daha farklıdır. Splenomegali (dalağın büyümesi) ve karaciğerde koagülasyon nekrozu, varyantların neden olduğu karakteristik lezyonlardır ancak çok az ölüm vardır. vvIBDV suşlar, klasik suşlar gibi embriyolarda benzer lezyonları indüklemektedir (Takase ve diğerleri, 1996).

CAM, tavuk embriyolarını vvIBDV ile enfekte etmek için kullanılan en hassas yol olarak kabul edilmektedir ancak vitellüs kesesi de alternatif bir yol olarak kabul edilmektedir. Araştırmacıların deneyimlemeleri, serotip 2 viruslarının, CAM yoluyla embriyonlaşan tavuk yumurtalarına inokule edildiğinde genellikle tipik lezyonları indüklemediği ve görülen tek belirtilerin zayıf, soluk ve sarımsı embriyolar olduğunu ortaya koymuştur (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.6.2. Hücre Kültürü

IBDV'nin birçok suşu tavuk embriyo kökenli hücre kültürlerine adapte edilmiştir ve plak oluşumu tahlillerine veya mikrotitre tekniklerine izin veren sitopatik etkiler gözlemlenmiştir. Tavuk embriyo fibroblastlarının, yumurtaya uyarlanmış IBDV suşlarını çoğaltmak için uygun

olduğu kanıtlanmıştır (Rinaldi ve diğerleri, 1972). Tavuk embriyo fibroblastlarının, embriyonlu yumurtalardan veya gebe farelerden daha duyarlı olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Rekha ve diğerleri, 2014) yabancı tip bir virustan atenüe canlı virus aşısı geliştirmek için tavuk embriyosu kloakal bursasından alınan hücre kültürleri de kullanılmış, ardından embriyo böbrek hücrelerine geçiş ve ardından CEF’de çoğalma yapılmıştır. Virus, tavuk kökenli hücrelerin yanı sıra hindi ve ördek embriyo hücrelerinde de çoğalma göstermiştir (Luckert ve Davis, 1974; McNulty ve diğerleri, 1979).

IBDV suşlarını çoğaltmak için kanatlı kökenli birkaç sürekli hücre dizisi de kullanılmıştır. Bunlar arasında kanatlı fibroblastik hücre dizileri olan DF1 ve QT35, tavuk makrofaj dizisi, kanatlı löykoz virus kaynaklı DT40 lenfoma hücre dizisi ve B-lenfoblastoid hücre dizisi LSCC-BK3’dır. Özellikle bu son iki hattın, daha önce CEF’e adapte edilmemiş patojenik IBDV suşlarını başarılı bir şekilde çoğalttığı bildirilmiştir. DT40 hücre dizisi, IBDV ile kalıcı olarak infekte olabilmektedir (Delgui ve diğerleri, 2009; Terasaki ve diğerleri, 2008).

IBDV’yi çoğaltmak için memeli hücre hatları da kullanılmıştır. Bunlar tavşan böbreklerinden (RK-13), murin embriyonik hücrelerden (BALB/c 373), maymun böbreklerinden (Vero, MA104) ve yavru grivet maymun böbrek hücrelerinden (BGM-70) türetilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Lawal ve diğerleri, 2017) Vero, MA104 ve BGM-70 hücre hatlarının tümü, serotip 1 varyantları dâhil olmak üzere her iki serotipin birkaç IBDV suşunu çoğaltabileceği ancak “sitopatik” etkilerin en çok BGM-70 hücrelerinde belirgin olduğu gözlenmiştir. BGM-70 hücrelerinde test edilen bir suşun büyüme eğrisi, CEF’lerdekine benzer bulunmuş ve BGM-70 kültürlerindeki virus nötralizasyon titreleri daha düşük bulunmuştur (Jackwood ve diğerleri, 1987; Delgui ve diğerleri, 2009).

Normal tavuk lenfositleri, virulent IBDV’yi çoğaltan ilk konakçı hücrelerdir ve İmmunoglobulin M (IgM) taşıyan B lenfositlerin IBDV’nin olası hedef hücreleri olduğunu göstermiştir. Zenginleştirilmiş İmmunoglobulin (Ig) taşıyan hücreler, tercihen IBDV için çoğalma yeri olduğu ve virusun kopyalandığını ve duyarlılığın yüzeylerinde Ig’lerin ekspresyonu ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Yine yapılan çalışmalarda, normal tavukların kemik iliğinden izole edilen tavuk mezenkimal kök hücrelerinin IBDV enfeksiyonuna duyarlı olduğu gösterilmiştir (Lee ve Luckart, 1986; Khatri ve Sharma, 2009).

İzolasyon ve seri pasajlamalar ile ayrıca klinik deneyimlere rağmen saha vakalarından IBDV izolasyonu zor olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada (McNulty ve diğerleri, 1979) hindi suşları 3 ila 10 kör geçişten sonra CEF hücrelerine adapte edilebilmiştir. Bunun yanı sıra 9 tavuk suşundan sadece 2’si CEF hücrelerine adapte edilebilmiştir; diğer 7 suş, 20 bursal

pasajlamadan sonra bile sadece tavuk embriyosu kloakal bursal hücrelerinde çoğaltılabilmektedir (Hassan ve Saif, 1996; Saif, 1995).

BGM-70 hücreleri, doğal olarak enfekte olmuş civcivlerin Bursa fabricius' larından IBDV'nin izolasyonu için başarıyla kullanılmıştır. Genellikle, iki veya üç kör geçişten sonra sitopatik etki saptanmıştır. Virus BGM-70 hücrelerinde veya CEF'te altı kez geçişi belli bir patojenite kaybına yol açmıştır ancak tavuk embriyosuna benzer geçişler virusun patojenitesini etkilememiştir. Daha sonra, virusun BGM-70 hücrelerine adaptasyonunun, virusun kloakal bursada çoğalma yeteneğinde önemli bir azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Müller ve diğerleri, 1986).

Klasik ve varyant serotip 1 suşları ile karşılaştırıldığında, vvIBDV viruslarının hücre kültürüne adaptasyonu zor olmuştur. LSCC-BK3 hücrelerinin bir infektivite analizinde BGM-70 hücreleri ve CEF'ten üstün olduğu gösterilmiştir (Tsukamoto ve diğerleri, 1995).

2.7. Patojenite

Tavuklar, IBDV'ye maruz kaldıklarında farklı lezyonların ve ardından klinik belirtilerin şekillendiği hayvanlardır. Farklı IBDV izolatlarının patojenitesini değerlendirmeyi amaçlayan deneyleri karşılaştırırken, bu deneylerin iyi karakterize edilmiş patojeniteye (kontrol grupları) sahip, ilgili suşları içermesine dikkat edilmelidir. Karşılaştırmalı denemelerde standardize edilecek başlıca değişkenler, maruz bırakılan tavukların ırkı veya genetiği, yaşı, bağışıklık durumu, tehdit eden virusun aşılama yolu, aşıda kontamine edici virusların olası varlığı ve en önemlisi dozudur (OIE, 2004).

Saha virusları, tavuklarda farklı derecelerde patojenite sergilemektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Araştırmacıların, spesifik patojen içermeyen (SPF) beyaz leghorn yumurtacı tavuklarda akut IBD'nin deneysel üremesine dayanan çalışmalarında, "varyant" IBDV'nin herhangi bir klinik belirti ve mortaliteye neden olmadığı ancak Bursa fabricius' ta belirgin lezyonlara neden olduğu gözlenmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020). Klasik IBDV tipik belirti ve lezyonlarda yaklaşık %10-50 mortaliteye neden olmakta ve vvIBDV, tipik belirti ve lezyonlarda yaklaşık %50-100 mortaliteye neden olmaktadır. Karşılaştırmalı çalışmalar, sınır değerleri tanımlamanın zor olabileceğini ve varsayılan vvIBDV'nin, yalnızca segment A'nın genetik sekansı ile tanımlandığında, patojenite açısından büyük ölçüde değişebileceğini göstermektedir. Atenüe canlı aşı virusları da tavuklarda değişen şiddette patojenik potansiyele sahip olabilmektedir (Jackwood ve diğerleri, 2011; Kösters ve diğerleri, 1972).

Virusun izole edildiği türlerden (tavuklar veya hindiler) bağımsız olarak, serotip 2 izolatları ile aşılanmış tavuklarda ne klinik belirtiler ne de makroskopik veya mikroskopik lezyonlara rastlanmamıştır. 1-8 günlük yaşta aşılanan hindi kümes hayvanlarında, hindilerden elde edilen bir serotip 2 izolatı, kloakal bursa, timüs veya dalakta hastalık veya lezyonlara neden olmamış; ancak virusun bulaşı olduğu ve kümes hayvanları enfeksiyona “serolojik” olarak da yanıt verdiği belirlenmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020). Hindilerden elde edilen serotip 1 ve serotip 2’yi temsil eden izolatlarla 1 günlük kümeslerde yapılan deneysel bir enfeksiyon sonucunda, enfekte olmuş kanatlıların çeşitli dokularında immunofloresan yoluyla virusla enfekte hücreler gösterilmiş, ancak hiçbir klinik hastalık tablosuyla sonuçlanmamıştır. Sadece küçük değişiklikler gözlemlenmiş ve enfekte olan ve olmayan kanatlılar arasında hiçbir histopatolojik farklılıklar saptanmamıştır. Genel olarak, bu dokulardaki enfekte hücrelerin dağılımının, sadece lenfositlerle sınırlı olmadığını göstermektedir fakat tam anlamıyla netlik kazanmamıştır (Abdel-Alim ve Saif, 2002; Ismail ve diğerleri, 1988). Harder bezindeki plazma hücrelerinin sayısı 28 günlükken azalma göstermektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Konağın sistemin virusun patojenitesi üzerindeki etkisi konağın maternal antikor seviyesine, virusun suşuna ve konağın yaşı gibi faktörlerden büyük oranda etkilenmekte ve son derece önem arz etmektedir (Hassan ve Saif, 1996; Tsai ve Saif, 1992; Nusbaum ve diğerleri, 1988). Yapılan çalışmalarda, tavuk embriyolarında beş kez geri pasajlanan serotip 2 virusunun OH suşunun, embriyolarda replike olduğu ortaya konmuştur.

2.8.İnsidans ve Dağılım

Serotip 1 IBDV ile meydana gelen enfeksiyonlar, büyük kanatlı üretim alanlarında ve hatta dünya çapında bir dağılıma sahiptir. Bu alanlarda enfeksiyonun insidansı yüksektir; esasen tüm sürüler, doğal yoldan maruz kalma veya aşılama yoluyla yaşamın erken evrelerinde virusa maruz kalmaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020). Çoğu üretici tarafından yürütülen aşılama programları nedeniyle, tüm tavuklar sonunda IBDV’ye karşı serotip pozitif hale gelmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Amerika’da klinik vakalar nadirdir çünkü enfeksiyonlar ya antikorlar tarafından seyri değiştirilir ya da klinik hastalığa neden olmayan varyant suşlardan kaynaklanmaktadır. Bu varyant suşlar Amerika’da var olan baskın viruslar gibi görünse de, vvIBDV’ye bağlı salgınlar, 2008’in sonlarında California’da meydana gelmiştir. Avustralya’da klasik viruslar ve yerel bir tür varyant bildirilmiştir. Avrupa, Afrika, Asya ve Güney Amerika’da vvIBDV suşlarının baskın olduğu görülmektedir. Amerika’da, tavuk ve hindi sürülerinde serotip 2 IBDV’ye karşı antikorların yaygın olduğu gösterilmiştir, bu durum

enfeksiyonun yaygın prevalansını göstermektedir (McNulty ve Saif, 1988; Teshome ve diğeri, 2015; Etterradossi ve Saif, 2020).

Türkiye’de enfeksiyonun varlığına ilişkin ilk rapor Kandil (1978) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacı Çukurova bölgesinde broyler ırkı piliçlerde IBDV enfeksiyonun seyrettiğini ve otopside but ve göğüs kaslarında şiddetli kanamalar ile Bursa fabricius’ta büyüme şekillendiğini ve bu vakalardan virüsü izole ettiğini gözlemlemiştir (Kandil, 1978). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde IBDV’u izole edilmiştir (Ergün, 1989). Sero-survey çalışmaları ile Konya çevresindeki aşısız kümeslerde IBDV virusuna karşı %31,3 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Baysal ve Bozkır, 1989).

2.9 Doğal ve Deneysel Konakçılar

Tavuklar ve hindiler virusun doğal konakçılarıdır. Bursa fabricius, dalak ve/veya timusta lenfosit deplasyonu olan iki devekuşu yavrusundan (ölü veya sağlıklı olanlardan) bir serotip 1 virüsü izole edilmiştir (Woolcock ve diğeri, 1995). Başka bir vvIBDV, Kore’de ölü bir saksağandan izole edilmiştir (Jeon ve diğeri, 2008). Genetik olarak vvIBDV ile ilişkili virüsler, Doğu Afrika’daki görünüşte sağlıklı güvercinlerden ve Gine tavuğundan RT-PCR ile tespit edilmiştir. Spesifik klinik belirtiler olmadan ölen deneysel olarak üretilen penguenlerden bir serotip 2 IBDV izole edilmiştir. vvIBDV ile sülün, keklük, bıldırcın ve beç tavuğu ile yapılan mücadele çalışmalarında bu türlerde herhangi bir klinik belirti veya lezyona rastlanmamış, ancak bıldırcınların Bursa fabricius’larında virus replikasyonu belirlenmiş, beş gün boyunca da dışkı ile saçılım gözlenmiş ve de nötralizan antikorların oluştuğu dikkati çekmiştir (Gough ve diğeri, 2002; Kasanga ve diğeri, 2008).

Tavuk, uzun yıllar boyunca, doğal Gumboro enfeksiyonların oluştuğu tek tür olarak kabul edilmiştir. Tüm ırklar enfeksiyondan etkilenmiştir ve birçok araştırmacı yumurtacı beyaz leghorn’ların en şiddetli lezyonları ve klinik belirtileri sergilediğini ve en yüksek ölüm oranına sahip olduğu gözlemlenmiştir, ancak diğer çalışmalar ağır ve hafif ırklar arasında hiçbir fark gözlemlenmemiştir (Meroz, 1966).

Klinik hastalığa en fazla yatkınlık dönemi 2 ile 6 haftalıktır. 2 haftadan küçük duyarlı tavuklar klinik belirti göstermezler ancak şiddetli immunosupresyonun bir sonucu olarak ekonomik açıdan ciddi öneme sahip subklinik enfeksiyona sahiptirler (Etterradossi ve Saif, 2020).

Tavukların IBDV'ye yaş duyarlılığı, virusun hedef organı olan fonksiyonel bir kloakal bursa'nın mevcudiyeti ile birçok çalışmada ilişkilendirilmiştir. Siklofosamid uygulanan 3 günlük civcivler, 4 haftalıkken virusa maruz bırakıldıklarında klinik belirti ve lezyonların gelişmediği dikkati çekmiştir. 4 haftalıkken cerrahi olarak bursektomize edilen civcivlerde de benzer sonuçlar görülmüştür. Hemen veya bir hafta sonra virusa maruz bırakıldıklarında, klinik hastalık tablosu oluşturmazlar oysa bursektomi yapılmayan kontrol civcivlerinin %100'ü ölmüştür. Virulent virusa maruz bırakılan bursektomizecivcivler, kontrol grubundakilere göre 1000 kat daha az virus titresine sahip oldukları ve 5.günde nötralizan antikorlar ürettikleri ve ayrıca lenfoid dokularda geçici nekrozların oluştuğu kaydedilmiştir (Fadly ve diğerleri, 1976; Käufer ve Weiss, 1980).

Sırasıyla serotip 2 ve serotip 1 virusları tarafından hindi ve ördeklerde doğal olarak meydana gelen enfeksiyonlar bildirilmiştir. Ancak yapılan bir çalışmada, 1978'den önce toplanan hindi serumlarının serolojik olarak negatif olduğu, bu durum hindilerde IBDV enfeksiyonunun nispeten yeni bir olay olduğunu düşündürmüştür (Johnson ve diğerleri, 1980; McFerran ve diğerleri, 1980; McNulty ve diğerleri, 1979; Page ve diğerleri, 1978).

Hindilerin deneysel IBDV enfeksiyonu, 3-6 haftalık kümes hayvanlarında subklinik ve Bursa fabricius' ta mikroskopik değişiklikler şekillendirmektedir. Virusla enfekte bursal hücreler immunofloresanla metotla tespit edilebilmektedir. Nötralizan antikorlar inokulasyondan sonra 12.günde tespit edilebilmektedir. 6-8 haftalık IBDV ile enfekte kanatlılarda virüs nötralizasyon antikorlarında bir artış gözlemlenmesine karşın, enfeksiyon subklinik seyir göstermekte ve Bursa fabricius'ta herhangi bir mikroskopik değişiklik kaydedilmemiştir (Giambrone ve diğerleri, 1978; Weismann ve Hitchner, 1978).

2.9.1. Taşınma ve Vektörler

İnfeksiyöz Bursal Hastalık (IBD) oldukça bulaşıcıdır ve virus kümes ortamında kalıcı olmaktadır. Enfekte kanatlıların kaldırıldığı kümeslerde 54 ve 122 gün sonra dahi diğer kanatlılar için bulaşıcı olabilmektedir. Ayrıca, 52 gün sonra enfekte kümeslerden alınan su, yem ve dışkı örneklerinin bulaşıcı olduğu bildirilmiştir (Benton ve diğerleri, 1967; Eterradossi ve Saif, 2020).

IBDV'nin yumurta yoluyla bulaştığı veya hastalıktan iyileşen kanatlıların gerçek bir taşıyıcı olduğuna ilişkin durumun varlığına dair hiçbir bilimsel kanıt bulunmamaktadır. Virusun ısıya ve dezenfektanlara karşı direnci, salgınlar arası ortamda virusun hayatta kalmasını

açıklamak için yeterli olmaktadır. Salgından yaklaşık 8 hafta sonra bir kümeden alınan küçük bir un kurdu (*Alphitobius diaperinus*), zemin süspansiyonu olarak beslendiğinde duyarlı tavuklar için bulaşıcı özellik taşımaktadır. Yapılan bir çalışmada virus, yetişkin un kurtlarından ve larvalarının çeşitli dokularından izole edilmiştir (Snedeker ve diğerleri, 1967; McAllister ve diğerleri, 1995).

IBDV, Güney Ontario'da tavukların yetiştirildiği bir küme sivr sineklerden (*Aedes vexans*) izole edilmiştir (Hoop, 1993). İzolat, tavuklar için patojenik bir etki yaratmamıştır. IBDV antikoru, IBDV enfeksiyonu geçirmiş olan dört kanatlı kümesinde ölü bulunan sığırcılardan alınan 23 doku örneğinden 6'sında agar-jel presipitin (AGP) testi ile tespit edilmiştir. Sivrisineklerin veya sığırcıların vektör veya rezervuar olarak hareket ettiğini destekleyen başka bir kanıt bulunmamaktadır. Yine Akut IBD'den ölen tavuklarla beslenen köpeklerde, oral yolla alımdan sonra 2 güne kadar dışkılarında vvIBDV saçılımı dikkati çekmiştir (Okoye ve Uche, 1986; Pagès-Mantè ve diğerleri, 2004).

2.9.2. Morbidite ve Mortalite

Duyarlı sürülerde hastalık aniden ortaya çıkar ve genellikle %100'e yaklaşan yüksek bir morbidite oranına sahiptir (Chettle ve diğerleri, 1989). Mortalite genellikle %5-20 arasında değişmekle birlikte vvIBDV suşları ile enfeksiyonda bu oran %90'a varabilmektedir (Yeşilbağ, 2021). Mortalite çok fazla değişkendir. Bu durum virusun patojenitesine, konakçının bağışıklık sistemine vb. göre değişim göstermektedir. Enfeksiyon genellikle inokulasyondan sonra 3.günde başlar ve 5-7 günlük bir süre içerisinde pik noktaya ulaşır ve sonra azalmaya başlar. 1980'lerin sonlarında vvIBDV suşları Avrupa'da bir sorun haline gelmiştir. Bu izolatların birçoğu, 4 haftalık duyarlı leghorn tavuklarında %90-100 arasında mortaliteye sebep olmuştur (Eterradossi ve Saif, 2020).

Bir kümedeki ilk salgınlar en şiddetli olanlardır. Birbirlerini izleyen kuluçkalarda tekrarlayan salgınlar daha az şiddetlidir ve sıklıkla takip edilememektedir. Gumboro enfeksiyonu, 3 haftalık yaştaki tavuklarda avirüent saha suşları ile enfeksiyonu veya maternal antikoru varlığı sebebiyle subklinik seyir göstermektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Hastalık enfekte olmayan bir sürüye girdiğinde (epizootik form) genellikle daha şiddetli seyreder ve önemli ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir ancak aşı uygulamaları veya hastalığın enzootik forma dönüşmesiyle beraber salgın daha hafif bir seyir almaktadır (Yeşilbağ, 2021).

2.10. PATOLOJİ

2.10.1. Makroskopik Lezyonlar

Enfeksiyona yakalanan tavuklarda, dehidrasyonla birlikte pektoral kaslarda hemorajiler görülmektedir. Sıklıkla uyluk ve göğüs kaslarında ekimotik kanamalar mevcuttur. Bağırsakta mukus artışı vardır ve ölen veya hastalığın ileri evrelerinde olan tavukların böbrekleri şişkin bir görünüm sergileyebilmektedir. Bu durum şiddetli bir dehidrasyonun sonucudur, ancak genellikle nekropsisi yapılan tavukların böbrekleri normal görünümündedir (Cosgrove, 1962; Eterradosi ve Saif, 2020).

Bursa fabricius, virusun birincil hedef organıdır. İnokulasyon veya enfeksiyon sonrasında bursal ağırlıklarının ayrıntılı olarak incelenmesi ve sırası iyi bilinmelidir. İnokulasyondan yaklaşık 3 gün sonra ödem ve hiperemi nedeniyle Bursa fabricius boyut ve ağırlık olarak artmaya başlar. 4.güne gelindiğinde, genellikle bursa fabricius normal ağırlığının iki katına çıkmıştır ve daha sonra boyut gerilemeye başlar. 5.günde bursa fabricius normal ağırlığına geri döner, ancak atrofiye uğramaya devam eder ve 8.günden itibaren esas ağırlığının üçte birine hatta daha da düşük bir boyuta ulaşabilmektedir (Cheville, 1967; Wani ve diğerleri 2021).

2. veya 3.günde, Bursa fabricius yüzeyi boyunca jelatinimsi, sarımtırak bir transudat örtmüştür. Yüzeyde longitudinal çizgiler belirginleşir ve normal beyaz renk soluklaşmaya başlar. Bursa fabricius normal boyutuna dönerken transudat kaybolmaktadır (Rosenberg ve Cloud, 1985; Sharma ve diğerleri, 1989; Hassan ve diğerleri, 1996).

Enfekte Bursa fabriciusta sıklıkla nekrotik odaklar ve bazen de mukozal yüzeyde peteşiyal veya ekimotik tarzda kanamalar görülmektedir. Nadiren tüm bursa fabricius boyunca yaygın kanama gözlemlenmiştir; nitekim böyle olgularda tavukların dışkısında kan gözlemlenebilmektedir (Eterradosi ve Saif, 2020).

Dalak, hafifçe büyüme gösterebilir ve genellikle dış yüzeyinde eşit olarak dağılmış küçük gri odaklar görülebilmektedir (Rinaldi ve diğerleri, 1965). Nadiren, proventrikülüs ve ventrikülüsün (taşlık) birleştiği yerde mukozada kanamalar gözlemlenebilir ve melenaya neden olabilir (Eterradosi ve Saif, 2020).

2.10.2. Mikroskobik Lezyonlar

IBD'nin mikroskobik bulguları öncelikle lenfoid dokularda yani Bursa fabricius, dalak, timüs, harder bezi ve sekal tonsillerde meydana gelir. Değişiklikler en şiddetli Bursa fabricius' ta meydana gelmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020). Enfeksiyondan veya inokulasyondan 24 saat sonra mikroskobik bulgular gelişebilmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020). Bursal foliküllerin medullar bölgesinde lenfositlerin dejenerasyonu ve nekrozu en tipik bulgulardandır. Lenfositlerin yerini kısa sürede heterofiller, piknotik hücre kalıntıları ve hiperplastik retikuloendotelial hücreler almaktadır (Etteradossi ve Saif, 2020). Hemorajiler sıkça görülmektedir ancak yine de tutarlı bir lezyon olarak kabul edilmemektedir. Enfeksiyonun başlangıç aşamalarında birkaç lenfoid folikül etkilenirken yaklaşık 3. ve 4.günde tüm foliküller etkilenmektedir. Bu sırada görülen bursal ağırlık artışına, şiddetli ödem, hiperemi ve belirgin heterofil artışı neden olmaktadır (Etteradossi ve Saif, 2020). Yangısal reaksiyon azaldıkça, foliküllerin medullar alanlarında kistik kavitasyonlar gelişmektedir; bu alanda heterofillerin ve plazma hücrelerinin nekrozu ve fagositozu meydana gelir ve aynı zamanda interfoliküler alanda bağ doku proliferasyonu gerçekleşir (Cheville, 1967; Hemboldt ve Garner, 1964; Mandelli ve diğerleri, 1967; Peters, 1967). Ayrıca, bursa fabricius'ta lenfositlerin sitoplazmasındaki organellerde değişiklikler, nükleer kromatin marjinasyonu ile karakterize dejenerasyon ve nekroz gözlenmektedir (Sing ve diğerleri, 2015).

IBDV enfeksiyonundan yaklaşık 24 saat sonra bursa fabriciusfoliküllerin medulla ve korteksinde lenfoid gürelerde azalma tükenme ve hasar gözlemlenmektedir. Bu tükenmiş ve hasar görmüş lenfositik hücrelerin yerini retikuloendotelial hücreler, heterofiller, nekrotik kalıntılar ve mononükleer hücreler alır. Tüm lenfoid foliküller enfeksiyondan 3-4 gün sonra etkilenir ve bu sırada görülen Bursa fabricius'un ağırlık artışına şiddetli ödem, hiperemi ve belirgin heterofil infiltrasyonu neden olmaktadır (Luckert ve Saif, 2004). Bu immünolojik reaksiyon sonucunda lenfoid foliküllerin medullar bölgelerinde ve bursal epitellerde kistik oluşumlar gelişir (Zahid ve diğerleri, 2018).

Klasik IBDV ile neonatal enfeksiyon sonrasında kloakal bursanın iyileşmesi belli bir sırayı takip etmektedir. B lenfositlerin başlangıçtaki tükenmesinin ilk hafta boyunca maksimum boyutta olduğunu ve 3 güne kadar geçici T lenfositler ve makrofaj akışı ile birleştiği gözlenmiştir. Enfeksiyondan sonraki 1 ila 8 hafta arasında, iki farklı tipte bursal folikül yapısı gözlemlenmiştir. Bunlardan ilki; büyük olasılıkla IBDV enfeksiyonundan kurtulan endojen bursal kök hücreleri tarafından yeniden oluşturulan, daha büyük yapıda, yeniden yapılanmış

fonksiyonel foliküller; ikincisi ise; ayırt edilebilir bir korteks ve medulla içermeyen küçük, zayıf gelişmiş foliküllerdir. Bu küçük foliküllerin yapısı, fonksiyonel periferik B lenfositlerini üretemedikleri görülmüştür. Bu durum daha büyük yapıda olan fonksiyonel folikülleri olmayan tavuklarda antikor üretiminin olmamasıyla açıklanmıştır (Withers ve diğerleri, 2005; William ve Davison, 2005).

Dalakta enfeksiyonun erken evrelerinde adenoid kılıf arterlerinin çevresinde retiküloendotelial hücrelerinin hiperplazisi göze çarpmaktadır. 3.günde, germinal foliküllerde ve periarteriolar lenfoid kılıflarda nekroz görülmektedir ancak dalak germinal foliküllerde kalıcı bir hasar oluşmadan hızla iyileşmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Timus ve sekal tonsiller, enfeksiyonun erken evrelerinde lenfoid dokularda bir miktar hücreyel reaksiyonlar göstermektedir ancak dalakta olduğu gibi hasar yaygınlaşmamakta ve iyileşme çok hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Harder bezi 1 günlük civcivlerin IBDV ile enfeksiyonunu takiben ciddi bir şekilde etkilenebilir. Yaşa bağlı olarak Harder bezi plazma hücreleri tarafından kuşatılır, ancak IBDV ile enfekte bezde plazma hücreleri nekroza uğradığından böyle bir morfoloji gözlenmemektedir (Etteradossi ve Saif, 2020). Yapılan çalışmalarda, 1 haftalıktan itibaren, enfekte tavukların bezlerinde, kontrollere göre 5-10 kat daha az plazma hücre popülasyonu gözlemlenmiştir. Buna karşılık, 3 haftalıkken IBDV ile aşıl原因an piliçlerde, Harder bezinde inokulasyondan 5-14 gün sonra plazma hücrelerinin nekroz gözlenmiş ve plazma hücreleri inokulasyondan 7 gün sonra %51 oranında azalma göstermiştir; ancak bu azalmalar geçici olmaktadır ve yaklaşık 2 hafta içerisinde sayılar normale dönmektedir (Dohms ve diğerleri, 1981; Dohms ve diğerleri, 1988; Survashe ve diğerleri, 1979).

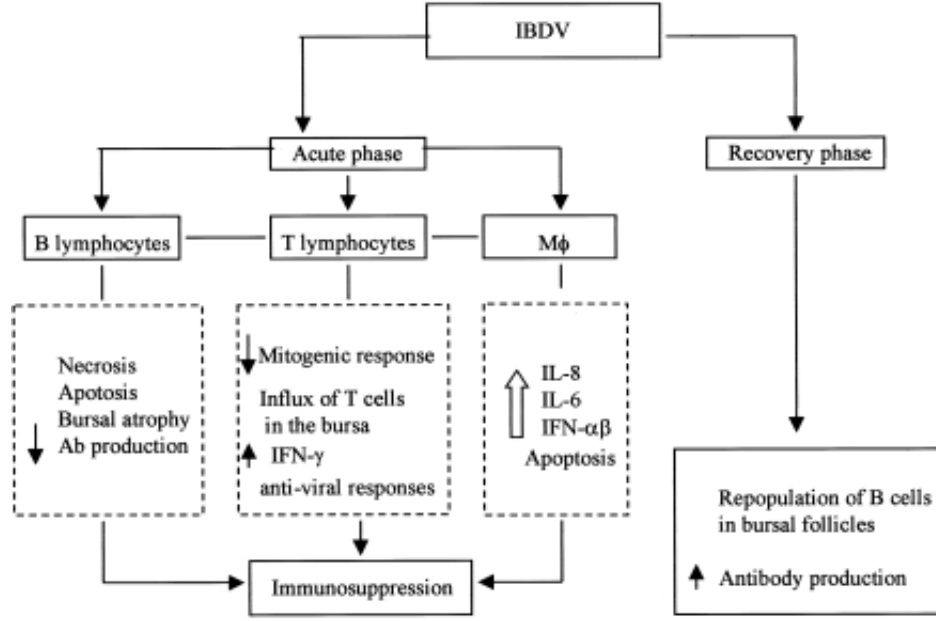
2.10.3. Ultrastrüktürel Değişiklikler

Taramalı elektron mikroskobu ile incelemelerde, IBDV ile enfekte civcivlerin bursa fabricius yüzey epitelinde; enfeksiyondan veya inokulasyondan 48 saat sonra epitel hücrelerinin üzerindeki mikrovillusların sayısında ve boyutunda bir azalma gözlemlenmiştir. Normalde yüzeyde görülen düğme benzeri foliküllerde kademeli kayıplar mevcuttur ve 72 saate kadar çoğunda kıvrılma gözlenmiştir. 96 saate kadar, epitel yüzeyinde çok sayıda erozyona rastlanabilir. 9.günde ise yüzey epiteli sağlamdır ancak foliküller derin kaviteasyonlar şeklinde görülmektedir (Naqi ve Millar, 1979).

2.10.4. Patogenez

Virus bulaşması oral yolla gerçekleşmekte ve enfeksiyonun ilk aşamalarında (oral bulaşmadan 4-5 saat sonra) etken, bağırsaklarla ilişkili mononükleer hücreler ve lenfoid hücreleri enfekte etmektedir (Şekil 2). Buradan portal sirkülasyona geçerek birincil viremi safhası gelişir ve enfekte makrofajlar virusu bursa fabricius'a taşımaktadır. Enfeksiyondan 11 saat sonrasında etken bursa fabricius'taki lenfositlerde saptanabilmektedir. Burada yoğun miktarda çoğalan virus ikincil viremiyle diğer doku ve organlara yayılabilir. Bu aşama virus süşunun virulensine göre değişkenlik göstermektedir. Enfeksiyon sonrası 3-4.günde Bursa fabricius normal yapısının beş katına kadar büyür. Ödemli ve hiperemik görünlü olup longitudinal çizgiler dikkati çekmektedir. Bursadaki lenf folikülleri nekroz ve apoptozise bağlı lenfosit yıkımlanması sebebiyle kollabe olmaktadır (Yeşilbağ, 2021).

Bursa fabricius B lenfosit matürasyonu (gelişimi) ve aviditesi (antikorun antijenle bağlanma kuvveti) için ideal bir ortam konumundadır. Burada bulunan lenfoblastlar ve IgM üreten B lenfositleri virus replikasyonuna elverişliken, kök hücreleri ve periferdeki B hücreleri elverişli değildir. Bu durum bursa fabricius'u virus patogenezinin merkezi konumuna getirir. IBD virusunun T lenfositlerini (hücresele immünite) de sınırlı düzeyde etkilediği gösterilmiştir (Yeşilbağ, 2021).



Şekil 2. IBDV'nin patojenik ve immünosupresif yönlerinin bir özeti (Sharma ve diğerleri, 2000).

Enfeksiyonu atlatan kanatlılarda bursal foliküllerde neredeyse hiç lenfosit saptanamaz. Çok virulent virus suşları (vvIBDV) aynı zamanda timüs, dalak ve kemik iliğinde de hücre yıkımına sebep olmaktadır. Yaşamın henüz erken dönemlerindeki (3 haftalık yaştan küçük) civcivlerde şekillenen subklinik IBDV enfeksiyonları olgunlaşmamış lenfositleri yıkımladığı için uzun süreli immunsupresyona sebep olmaktadır. Bu tür hayvanlar aşılarda yeterli bağışıklığı oluşturamayacağı gibi, diğer enfeksiyonlara karşı da duyarlı hale gelmektedir (Yeşilbağ, 2021).

IBDV, yüzeylerinde enfeksiyona neden olmak için hedef hücelere nüfuz edebilmek için hücrel bir reseptör gerektiren VP2 proteinine sahiptir. Hücrel reseptör esas olarak hedef hücreler üzerinde dağılır ve doku özgüllüğü dolayısıyla patolojik değişikliklerin yeri enfeksiyonla ilişkilidir (Haywood, 1994). Tavuk B lenfositleri, IBDV serotip1'in birincil hedef hücreleridir. Bu nedenle enfeksiyon, bursa Fabricius'un işlevsel kaybına neden olur, bu durum da tavuklarda şiddetli bir immunsupresyona yol açmaktadır (Rekha ve diğerleri, 2014; Hussein ve diğerleri 2019).

Oral alım veya inhalasyon yolu ile konakçı girişinde sonra IBDV, viral giriş işlemi sırasında "olgunlaşmamış" IgM+ B hücrelerinin, hücre zarında eksprese edilen N-glikozil polipeptit gibi konakçı hücre proteinlerine bağlanabilir. 2 ila 3 gün arasında değişen kısa inkübasyon periyotları nedeniyle, IBDV'nin dış kapsidiyle ilişkili olan virusun gözenek peptidi

olarak da bilinen “PEP46”, enfekte olmuş hücrelerin sitoplazmasına viral girişi kolaylaştırabilir (Yip ve diğerleri, 2012).

IBDV, bağırsakla ilişkili lenfoid dokuların (GALT) lenfositlerinde ve makrofajlarında enfeksiyon ve replikasyonu başlatır. Viral replikasyonun bu aşaması birincil viremiyi işaret eder. Enfekte edilmiş makrofajlar, virusu bursal IgM+ B hücrelerinin sitoplazmasında kapsamlı IBDV replikasyonu için ana hedef organı olan bursa fabricius’a taşır. Enfeksiyondan yaklaşık 16 saat sonra hastalığa ve ölüme yol açan ikinci bir viremi dönemi meydana gelir veya virus bursa fabricius’taki lenfoid folikülleri, GALT gibi sekonder lenfoid dokuları, solunum sistemine ait lenfoid dokuları (BALT) ve sekal tonsillerdeki B hücrelerini yok edebilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2008).

Timus, kemik iliği, dalak, sekal tonsiller ve harder bezi gibi diğer lenfoid organlara virus yayılımı ancak vvIBDV enfeksiyonu sırasında gerçekleşebilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2008).

Enfeksiyondan 48 saat sonra, IBDV enfeksiyonu bursa fabricius’ta belirgin bir yangıyı indükler. Üçüncü ila dördüncü güne kadar tüm bursal IgM+ B hücreleri enfekte olur ve sitolitik değişiklikler gösterir. Klinik bulgular ve ölüm IBD’nin akut fazından (7-10 gün) kaynaklanabilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2008).

Akut litik faz sırasında virus replikasyonu, dolaşımdaki IgM+ hücrelerinde ciddi şekilde bir azalmaya ve birincil antikor yanıtının uzun süreli baskılanmasına neden olur. Akut hastalık ve ölüm, bu virüslerin konak dokular üzerindeki nekrotize edici etkisinden kaynaklanmaktadır. Kanatlılar, hastalığın bu aşamasında hayatta kalır ve iyileşirse, yaygın olarak kullanılan aşuların diğer patojenlere karşı koruyucu tepkilerini engelleyen ve fırsatçı enfeksiyonlara karşı civcivleri duyarlı hale getirebilir. Virus tercihen aktif olarak çoğalan ve farklılaşan B lenfositleri etkiler, bu durum da esas olarak bir haftalık yaştan daha küçük olan civcivlerde immunsupresyona neden olur ve tüm bursal hücreler nekroza uğrayabilir. Olgunlaşmış B hücreleri ise virüs ile uyarım sonucunda daha da genişleyecekken, olgunlaşmamış olanlar yok edilmektedir (OIE, 2004).

T hücreleri, IBDV ile enfeksiyona dirençlidir. Enfeksiyondan 5 gün sonra hastalığın erken fazında bursa fabricius’taki viral replikasyonu sınırlandırarak patogenezi kontrol altına alabilir ancak muhtemelen sitokin salınımını indüklemesi ve doku iyileşmesini geciktirmesiyle

sitotoksik bir etki yaratabilmektedir. Bununla birlikte, IBDV enfeksiyonu, T hücrelerinin mitojenlere karşı proliferatif etkisini ciddi oranda azaltabilir ancak bu durum da hücrel bağışıklık tepkilerinin de tehlikeye girdiğini gösterir. Genel olarak, klinik bulguların şiddeti, organ lezyonları ve immunsupresyon gibi IBDV enfeksiyonlarının dejenerasyonları, etkilenen tavukların bağışıklığına, yaşına, genetiğine ve enfekte edici virüs suşunun virulansına bağlı olmaktadır (Kim ve diğerleri, 2000).

Normal koşullar altında, enfeksiyon genellikle oral yol ile şekillenir. Viruslar bağırsaklardan fagositik hücreler aracılığı ile diğer doku ve hücrelere taşınırlar. Enfeksiyonun ilk birkaç saati içerisinde viral antijen karaciğer ve böbreklerde tespit edilmiştir. Viral replikasyon öncelikle bursa fabricius'ta gerçekleşir (Akan, 2002). IBDV'nin replikasyon için temel hedef organı bursa fabricius ve özellikle B lenfositlerdir (Chettle ve diğerleri, 1989, Kibenge ve diğerleri, 1988). İnfekte bursa fabricius'ta genellikle yangı, hemoraji, lenfositolizis ve organın atrofisi gözlemlenmektedir (Van den Berg, 2000). IBDV ile enfekte piliçlerde her iki humoral ve hücrel immunitede baskılanma görülmektedir (Confer ve diğerleri, 1981, Dohms ve Jaeger, 1998, Panigrahy ve diğerleri, 1982). In-vivo ve in-vitro çalışmalarda (Ivanyi ve Morris, 1976; Kaufer ve Weiss, 1980) virusun IgM karakterli B lenfositlere affinite gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Virus bursa fabricius'daki hücrelere ve bursal foliküllere hızla yayılır. Virusun replikasyon için, lenfoid hücreler ve foliküllerin kortikal bölgelerine ihtiyacı bulunmaktadır (Tanimura ve Sharma, 1997). Virusun akut litik fazı IgM hücrelerin dolaşımında azalması ile ortaya çıkmaktadır (Rodenberger ve diğerleri, 1994). T lenfositler IBD hastalığına ve virusa dirençlidirler. Enfeksiyonunun akut döneminde virusun timus hücrelerinde replikasyonu ile ilgili herhangi kanıt bulunmamaktadır. Timusun boyutsal olarak büyümesi ve mikroskopik bulguların görülmesi kısa süre içinde gerçekleşir. Ancak virus enfeksiyonu seyreden birkaç gün içerisinde normal yapısına geri dönmektedir (Sharma ve diğerleri, 1989).

Enfeksiyonun akut fazında T hücrelerinin IBDV ile yakından ilişkili olduğu, T hücrelerinin IBDV'nin patogeneğinde önemli rol oynadığını göstermiştir (Tanimura ve Sharma, 1997) IBDV ile enfekte hücrelerin sitotoksik T lenfosit ve doğal katil hücrelerce yıkılanmasında, perforin ve granzimlerin rolü önemlidir (Juuma ve diğerlerinin, 2019; Rauf ve 2011) . Ayrıca immunohistokimyasal metotlarla virüsü tanımlama çalışmalarında, IBDV ile enfekte Bursa fabricius dokusu ile enfekte olmayan Bursa fabricius karşılaştırıldığında, kortikal kısımlarda ya da interlobüler bölgede CD4+ T hücrelerinin belirgin şekilde artışı izlenmiştir. Antijen sunan hücrelerde (dendritik hücreler, langhans hücreleri, makrofajlar) Viral mRNA,

sitoplazma içindeki viral replikasyonun translasyon aşamasında, proteozomlar içinde antijenik yapılar küçük fragmentler halinde epitoplara tutunur. Daha sonra bu antijenik fragmentler, yeni sentezlenen sınıf I MHC moleküllerine bağlanarak endoplazmik retikuluma taşınır. Bu bağ, stabil bir heterodimer kompleksi (Sınıf I MHC ve viral peptit) oluşumuna yol açar; MHC-I ve viral antijen kompleksi hücre membran yüzeyine taşınır ve antijenin sitotoksik T lenfositlerce alınması ve tanınması sağlanır. Daha sonra, antijene özgül sitotoksik T lenfosit generasyonlarının oluşumu gerçekleştirilir. Sitotoksik T lenfositler, enfekte olmuş hücreleri tanır ve ilgili resptörleri aracılığıyla bağlanarak perforin ve granzimlerini enfekte hücreleri yıkımlar ya da apoptozise sürüklerler. Bu nedenle CD4+ ve CD8+ hücrel savunma mekanizmasına oldukça önemli katkılar sağlamaktadır (Juuma ve diğerleri, 2019).

2.11. İmmunite

IBDV'nin her iki serotipi, floresan antikor testi ve ELISA ile tespit edilebilen ortak grup antijen (ler)ini paylaşır (Ismail ve Saif, 1990; Jackwood ve Saif, 1982). Bu nedenle bu testlerle serotipleri veya bunların antikorlarını ayırt etmek mümkün olmamaktadır. Her iki serotip için ortak antijenler VP2 (40kDa) ve VP3 (32 kDa)'dür. Bunun yanı sıra VP2 virus nötralizan antikorlarını indükleyen serotipe özgü grup antijenlerine sahiptir. VP3'e karşı antikorların koruyucu etkisi yoktur. *In vivo* çalışma sonuçları göstermiştir ki, serotip 2 viruslarına karşı antikorlara sahip olan tavuklar serotip 1 viruslarına karşı etkin bir koruma sağlamamışlardır. Hâkim olan baskın düşünce ve kanıtlar, VP2 gen bölgesinin temsil ettiği antijenik yapılara karşı oluşan nötralizan antikorların etkin korumayı sağladığıdır (Azad ve diğerleri, 1987; Becht ve diğerleri, 1988; Ismail ve Saif, 1991; Jackwood ve diğerleri, 1985).

Geleneksel olarak serotip 1 virusları, IBDV'ye karşı bağışıklık tepkisi çalışmalarını için kullanılmıştır (Chui ve Thorsen, 1984; Ismail ve Saif, 1989): Bilinen tüm serotip 2 izolatlarının tavuk ve hindilerde patojenik olmadığı veya düşük patojeniteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Jackwood ve diğerleri, 1985): Serotip 1'in varyant suşlarının keşfi, IBDV'ye karşı bağışıklık mekanizmalarını belirlemeye yönelik ilgiyi arttırmıştır (Nusbaum ve diğerleri, 1988): Varyantların orijinal olarak serotip 1'e karşı virus nötralizan antikorları olan tavuklardan izole edilmesi de kayda değer bir veri olarak değerlendirilmektedir (Jackwood ve diğerleri, 1984; Perelman ve Heller, 1983): İnaktive aşılardan yapılan canlı bir aşı, tavukları varyant veya klasik suşların neden olduğu enfeksiyonlardan korurken, klasik suşlardan yapılan inaktive aşılardan korumaz veya varyant suşlar ile tehdiye karşı kısmen koruma sağladığı görülmüştür (Rosenberg ve Cloud, 1985; Saif, 1984): (

Humoral bağışıklığın korunmaya katkısı, maternal antikörlerin pasif transferi ile gerçekleşir. Hastalıktan korunmada hücre aracılı bağışıklığın da önemli bir katkısı vardır. Bazı tavuk ırklarının hastalığa karşı doğal dirençleri bildirilmiştir (Sharma ve diğerleri, 2001; Hassan ve diğerleri, 2002).

2.11.1. Aktif İmmünite

Virusa sahada maruz kalma veya inaktifaşlarla aşılama, aktif bağışıklığı uyarır. Antikor yanıtı çeşitli yöntemlerle ölçülebilir. Antikor titreleri, sahada maruz kalma veya aşılama sonrası koşullarda yüksek seyrederek ve 1:1000'den yüksek virus nötralizasyon titreleri olağandır. Yetişkinler, virusa oral yoldan maruz kalmaya karşı dirençlidirler ancak IBDV'nin kas içi veya deri altı aşılama sonrasında antikor üretirler. VP2 gen bölgesinin kanatlı çiçeği virus genomuna rekombine edilmesi ile nötralizan antikörlerin yokluğu; hücre aracılı bağışıklığın IBDV'ne karşı korunmada etkin bir rol oynadığının göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Hitchner, 1976; Bayliss ve diğerleri, 1991).

2.11.2. Pasif İmmünite

Tavuklardan yumurta sarısı yoluyla geçen maternal antikörler, erken evrelerde civcivleri IBDV'ne karşı karşı koruyabilir ve sonuçta virusun immünesupresif etkisini de bloke edebilmektedir. IBDV'ye karşı maternal antikörlerin yarı ömrü 3-5 gün arasındadır (Skeeles ve diğerleri, 1979). Bu nedenle, damızlık sürüden nesillere aktarılan maternal nötralizan antikörlerin titresi biliniyor ise, civcivlerin aşıya duyarlı hale geldiği gün aralıkları da tahmin edilebilir. Maternal antikor titreleri 1:100'ün altına düştüğünde, civcivler enfeksiyona %100 oranında duyarlı hale gelirler; 1:100 ila 1:600 arasındaki titreler ise virus tehdidi karşısında yaklaşık olarak %40 oranında koruma sağlar (Lucio ve Hitchner, 1979). Tavukların atenue bir IBDV ile etkili bir şekilde aşılanabilmesi için titrelerin 1:64'ün altına düşmesi gerekir (Skeeles ve diğerleri, 1979). Yağ emülsiyonlu adjuvanlarla inaktif aşıların kullanımı (varyant suşlarda dâhil) yüksek titrelerde maternal bağışıklığı uyararak için en yaygın şekilde kullanılan yöntemler arasındadır. Yağ emülsiyonu içeren adjuvan IBD aşıları, civcivleri 4-5 hafta boyunca etkin bir korumayı uyarırken, canlı aşıları yavruları sadece 1-3 hafta boyunca koruma sağlar. Birçok hastalıkta olduğu gibi, IBDV'ye karşı pasif olarak kazanılmış bağışıklık, aktif bir

bağışıklık tepkisinin uyarılmasına müdahale edebilmektedir (Baxendale ve diğerleri, 1980; Lucio ve Hitchner, 1979).

2.11.3. İmmüsupresyon

IBD hastalığı piliçlerde immüsupresyon ile sonlanmaktadır. Hastalığın bu etkisi çiftliklerde farklı şekillerde kendini göstermektedir. Özellikle üretim performansının düşmesi başta gelmektedir. Ayrıca sekonder enfeksiyonların artması, yemden az yararlanma, aşılamalardan sonra zayıf bağışıklık elde edilmesi gibi etkilerde görülmektedir (Giambrone ve diğerleri, 1977, Kim ve diğerleri, 1999).

IBD'nin CMI (hücre aracılı bağışıklık) yanıtları üzerindeki etkisi geçicidir ve humoral yanıtlar üzerindeki etkisinden daha az belirgindir. Lenfoblast transformasyon tahlili kullanılarak CMI tepkisinin baskılanması, enfeksiyon sonrası 6 haftalık dönemde hücrel bağışıklığın maksimum depresyonu ile tespit edilmiştir. Kanatlı hayvanlarda mitojen konkanavalin A'ya karşı T hücresi tepkisinin önemli derecede baskılanması, enfeksiyon sonrası 3.günden 4 haftaya kadar görülmüştür (Nusbaum ve diğerleri, 1984; Sivanandan ve Maheswaran, 1981). Bir varyant IBDV suşunun, 1 günlük civcivlere verildiğinde klasik bir suşa (Edgar) göre CMI yanıtı üzerinde önemli ölçüde daha şiddetli bir etkiye sahip olduğu görülmüş ve CMI 5 hafta boyunca baskılanmıştır ve 3 haftalıkken enfekten olan tavuklarda da CMI'de benzer bir geçici baskılanma gözlenmiştir (Craft ve diğerleri, 1990; Eterradossi ve Saif, 2020).

Enfeksiyondan etkilenen diğer bir lenfoid organ olan Harder bezi, üst solunum yollarının lokal bağışıklık sistemi ile ilişkilidir. 1-5 günlük civcivlerin IBDV ile enfeksiyonu, Harder bezinin plazma hücresi konsantrasyonunda 7 haftaya kadar devam eden ciddi bir azalmaya neden olmuştur (Dohms ve diğerleri, 1981; Pejkovski, 1979).

IBDV ile 1 günlük yaşta enfekte olan tavuklar, serum IgG'den tamamen yoksundurlar ve sadece monomerik immunoglobulin M (IgM) üretmektedirler (Ivanyi, 1975; Ivanyi ve Morris, 1976). IBDV ile enfeksiyonu takiben periferik kandaki B hücre sayısı azalmakta ancak T hücreleri kayda değer ölçüde etkilenmemektedir (Hirai ve diğerleri, 1979; Sivanandan ve Maheswaran, 1980). Bu durum da virusun esas çoğalma yerinin B lenfositler olduğunu kanıtlar niteliktedir (Hirai ve Calnek, 1979; Ivanyi, 1975; Yamaguchi ve diğerleri, 1981). IBDV'nin aktif olarak çoğalan hücreler için affinitesi vardır ve virusun “olgunlaşmamış” veya öncü B

lenfositleri etkilediği gözlemlenmiştir. Olgun B lenfositlerde bu süreçte etkilenir fakat öncü olanlara göre hasar daha az olmaktadır (Müller, 1986; Marquardt ve diğerleri, 1980).

Lenfosit lizisinin yanı sıra apoptoz, başka bir immunosüresyon mekanizmasıdır (Lam, 1997; Tham ve Moon, 1996). Apoptoz ayrıca lezyon gelişiminin de bir mekanizmasıdır ve çeşitli doku ve organlarda oluşabilmektedir (Allan ve diğerleri, 1972; Vasconcelos ve Lam, 1994; Vasconcelos ve Lam, 1995).

2.12. Tanı

Tamamen duyarlı sürülerde IBD'nin akut klinik salgınları kolayca tanınmakta ve olası bir teşhis kolaylıkla yapılabilmektedir. Ani başlangıç, yüksek morbidite, ani ölüm eğrisi ve klinik belirtilerden hızlı iyileşme (5-7 gün) bu hastalığın özellikleridir. Tanının doğrulanması, nekropside; bursa fabricius' da karakteristik olarak gözle görülür değişikliklerin tanımlanması ile yapılabilir. Enfeksiyon seyri sırasında bursanın boyutunda ve renginde belirgin değişiklikler gözlenmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020).

Bursa fabricius, en yüksek virus titrelerini içerdiği ve daha uzun süre kalıcı olduğu için IBDV izolasyonu için tercih edilen dokudur. Diğer organlar virüsü içerebilmesine karşın daha düşük konsantrasyonlarda ve daha kısa sürelerde lokalizedir (Eterradossi ve Saif, 2020).

9-11 günlük embriyoların CAM'ı virus izolasyonu için en hassas yoldur (Hitchner, 1970). Virus daha sonra allantoik kese ve vitellüs kesesi aşılama yollarına adapte edilebilmektedir. Enfeksiyon sonucunda embriyoların ölümü genellikle 3-5 gün içerisinde gerçekleşir. IBD'nin varyant suşları, klasik virustan farklı olarak embriyolarda splenomegali ve karaciğer nekrozuna neden olabilirler. Embriyolu tavuk yumurtası, IBDV'nin izolasyonu için en duyarlı olanıdır (Rosenberg ve diğerleri, 1985b).

Virusun B lenfositlerde çoğaldığı bilindiğinden, virus izolasyonu için ya bursa fabricius' dan türetilen birincil hücreler ya da B hücre kökenli sürekli hücre dizileri kullanılmaktadır. Bazı virus suşları hassastır ve embriyonlu yumurtalarda veya B lenfositlerde çoğalabilmelerine rağmen, tavuk embriyo fibroblast (CEF) hücrelerine veya böbrek ve karaciğer gibi diğer organlardan alınan hücrelere kolayca adapte olamamaktadırlar (Lee ve Luckert, 1986; McFerran ve diğerleri, 1980). Enfeksiyon embriyoların ve hücre kültürlerinin immunofloresan ve elektron mikroskop kullanımının, IBDV'nin erken dönemde tespiti ve tanımlanması için en etkili metotlar olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada %50 bursal lenfositler %50 CEF

içeren hücre kültürleri, IBDV'yi başarılı bir şekilde izole etmek ve serotiplendirmek için kullanılmıştır (Luckert, 1986). Fibroblastlar, lenfositler için konak görevi görür ve enfekte olmuş lenfositler, immunofloresan ile tespit edilmektedir. Etkilenen organ kesitlerinde immunofloresan boyama veya elektron mikroskopik inceleme , IBDV'nin tanımlanması ve identifikasyonuna doğrudan önemli katkı sağlamaktadır (McFerran ve diğerleri, 1980). Sahadaki hastalık vakalarından bu yöntemlerle antijen veya virus tespit edilirse, embriyolu yumurtalara ya da hücre kültürüne doku inokulasyonları ekimleri yoluyla virüsü izole etmek mümkün kılınır. Doğadaki virus popülasyonunu ve sirkülasyonundaki değişikliklerin izlenebilmesi için, çiftlik ve yabani yaşamdaki IBD vakalarından virusların izolasyonu, antijenik epitopların analizleri ve patojenite çalışmaları süregelen hale getirilmelidir (Eterradossi ve Saif, 2020).

Tavuk sürülerinde klinik tablo ve hastalığın seyri genellikle IBDV enfeksiyonunun göstergesidir. Bursa fabricius'taki değişiklikler karakteristiktir. Histopatolojik çalışmalarla immunohistokimyasal olarak gösterilen viral antijenler kombine edildiğinde IBDV enfeksiyonu doğrulanmaktadır. Viral antijenler agar jel presipitasyon (AGP), in situ hybridization (ISH) veya antigen-capture ELISA (AC-ELISA) ile gösterelebilmektedir. Spesifik IBDV antikolların varlığı ticari ELISA sistemleri ile tespit edilebilmektedir. Virus nötralizasyon (VN) testi serolojik bir test olup IBDV izolatlarının antijenik serotiplerini ve subtiplerini güvenli olarak differensiyasyon etmektedir (Jackwood ve Saif, 1987).

Son yıllarda IBDV teşhisinde RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) daha sıklıkla kullanılmaktadır. RT-PCR vücut IBDV'nin hızla identifiye edilmesini sağlamaktadır (Jackwood ve Jackwood, 1994, Zierenberg ve diğerleri, 2001). RFLP (Restriction fragment length polymorphism) halen IBDV'nin altı farklı moleküler grubunu ayırmak için kullanılmaktadır (Lui ve diğerleri, 2002, Viswas ve diğerleri, 2002). IBDV ile enfekte bursa fabricius'ta hastalığın erken dönemini tespit etmek için in situ RT-PCR geliştirilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2002)

IBDV'yi doğrudan dokularda saptamak ve ayırt etmek için monoklonal antikollar ile gerçekleştirilen enzim temelinde çalışan testler (immunohistokimya, ELISA) ve spesifik nükleik asit probolar temelinde çalışan in-situ hibridizasyon testleri, virüsün tiplendirilmesine katkı sağlayabilir. Yapılan bir çalışmada, hücre kültürünün antijen-ELISA'ya göre daha duyarlı olduğunu, buna karşılık poliklonal antikolarla antijen tespitinin de monoklonal antikordan daha duyarlı olduğunu belirlemiştir. Deneysel olarak enfekte tavukların bursasında virüsün tespiti

için çeşitli prosedürlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, RT-PCR en duyarlı test olarak öne çıkmıştır (Hassan ve diğerleri, 1996; Abdel-Alim ve Saif, 2002; Abdel-Alim ve Saif, 2001).

IBDV genomunun ters transkripsiyonunu takiben izotermal amplifikasyon (RT-LAMP) metodu, IBDV'nin moleküler tanısında RT-PCR'a olası bir alternatif olarak görülmektedir, ancak RT-LAMP'da maliyet ve ekipman yönünden daha dezavantajlı bulunmuştur (Xu ve diğerleri, 2009).

2.12.1. Serolojik Tarama

Antikor titrelerini saptamak için Agar Jel Presipitasyon (AGP), ELISA ve virus nötralizasyon testi gibi serolojik testler aşı tepkilerinin izlenmesinin yanı sıra, aşılammamış sürülerde enfeksiyon tanısına katkı sağlamak amacıyla kullanılır. ELISA, aşılama, enfeksiyon ve maternal antikor titrelerinin belirlemek için en yaygın kullanılan testtir. Aynı zamanda ekonomik, basit ve hızlı olan bu testler, çok sayıda numuneyi aynı anda test edebilmeyi olanak sağlar (Luckert ve Saif, 2003). Viral antijenler AGP testiyle veya antijen-ELISA testiyle taranabilir, ancak bu tür testler moleküler ya da immunohistokimyasal testler kadar hızlı ve hassas olamayabilir (Knoblich ve diğerleri, 2000).

2.12.2. İmmunohistokimya

IBDV tanısı için immunohistokimya, viral antijeni saptamak için oldukça etkin tanı metotlarından biridir. İmmunohistokimya doku morfolojisi ile viral antijenin hücre lokalizasyonunu belirlemesi yönüyle de hastalık patogenezisine yaklaşımda önemli katkılar sağlamaktadır. Ancak, virus varyantlarını belirleyememesi bir dezavantajdır ve tanının moleküler testlerle desteklenmesi önerilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020; Haghighi ve diğerleri 2009).

Singh ve diğerlerinin (2015) yaptıkları bir çalışmada, etkilenen bursal doku kesitlerinin lezyon bölgelerinde, özellikle bursal foliküllerin merkezi kısımlarındaki lenfositlerde viral antijenlere rastlanıldığını bildirmişlerdir. Bazı olgularda bursa fabrcius'un epitel hücrelerinde de antijen pozitif reaksiyonlara rastlamışlardır.

Oladele ve diğerlerinin (2009)', bursal interfoliküler bağ dokusunda ve bursal epitelde de viral antijenlerin varlığını immunohistokimya ile belirlemişlerdir. Viral antijen dağılımı, foliküllerde fokalden diffuza kadar değişen dağılım gösterebilmektedir. Ayrıca, proventrikulus

ve ventrikulusun birleşim yeri ile ve sekal tonsillerde de IBDV antijenlerinin eksprese edildiği tespit edilmiştir (Sing ve diğerleri, 2015). Pantin-Jackwood ve Brown (2003) IBDV antijenleri aynı zamanda, proventriküler bölümlerde, trakea siliyer epitellerinde ve kalp kasında da lokalize olduğunu tespit etmişlerdir. Hemalatha ve diğerleri (2009) 1 günlük deneysel olarak enfekte ettikleri beyaz leghorn erkek civcivlerde benzer immunohistokimyasal sonuçları bildirmişlerdir. Singh ve diğerleri (2015), yaptıkları çalışmada ise genel olarak bursa fabricius'un korteks ve yüzey epitelindeki izole lenfoid hücrelerde değişen yoğunluklarda immunpozitif reaksiyonları görmüşlerdir. Benzer reaksiyon, enfeksiyondan sonraki günlere bağlı olarak timusun kortikal lenfositlerinde ve Harder bezinin birkaç glandüler epitel hücresinde de görülmüştür.

Gürel ve diğerlerinin (2002) yaptıkları bir çalışmada, yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda antijen pozitif boyanmalara en çok lenfosit hücrelerin sitoplazmasında ve hem interfoliküler hem de intrafoliküler bölgelerin interselüler alanlarında ve ayrıca özellikle geniş foliküler nekroz alanları gösteren bursaların kas tabakasının derinliklerine uzanan alanlarda rastlanmıştır ve yine sublinik Gumboro olarak değerlendirilen 8 bursal kesitten 7'sinde antijen pozitif boyanmalara en çok medullada bulunan ancak kortekste de görülen nispeten büyük vakuoler alanlarda bol miktarda bulunmuştur.

Zahid ve diğerlerinin (2018) yaptıkları bir çalışmada immunpozitif boyanmaların çoğu Bursa fabricius'un epitel hücrelerinde ve folliküllerdeki lenfositlerde görülmüştür. Bunun yanı sıra bursa fabricius dışındaki farklı dokularda infiltre mononükleer hücreler ve fibroblastlarda da nadiren de olsa pozitifliklere rastlanmıştır. Zahid ve diğerlerinin (2018) özellikle doku tropizminin mekanizması anlaşılmaya çalışılmış olup, doku tropizmini anlamak için immunohistokimyanın daha iyi bir tanı testi olduğu sonucuna varılmıştır.

Sing ve diğerlerinin (2015), yaptıkları çalışmada, İmmunohistokimyasal boyamanın, makroskobik veya mikroskobik lezyonlarla uyumlu olan ve immunofloresan teknikle desteklenmesi gereken IBDV enfeksiyonu nedeniyle farklılaşmış dokularda IBDV antijenini göstermek için kesin, spesifik, hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu sonucuna varmışlardır.

2.12.3. Ayırıcı Tanı

İlk hastalık salgınlarında ani başlangıç morbitidesi, kabarık tüyler, ara sıra dışkıda kan bulunması, akut bir koksidiyoz salgınını düşündürmektedir. Bununla birlikte, kas kanamaları ve genişlemiş ödemli veya hemorajik kloakal bursalar IBD'yi akla getirmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020).

IBD'den ölen tavuklar akut nefroz gösterebilir. Diğer birçok durum nefroz ve böbrek lezyonlarının tutarsızlığına neden olabileceğinden, bu tür lezyonlar IBD tanısı için yeterli neden olmamalıdır. Bursa fabricius tutulumu genellikle IBD'yi diğer nefroza neden olan durumlardan ayırt edecektir. Dehidrasyon, böbrek değişikliklerine ve muhtemelen IBD enfeksiyonu ile ilişkili olanlara çok benzeyen gri, atrofik bursalara neden olabilmektedir. Bununla birlikte, bu bir sürü koşulu olarak oluşmadıkça, bu tür değişiklikler nispeten daha az sayıda tavukta görülmektedir. Bu vakaların ayırıcı tanısında yardımcı olmak için sürünün öyküsü esas olmaktadır (Etteradossi ve Saif, 2020).

IBD'nin akut formlarının klinik tanısı, ani ölümler ve hastalanan tavukların kısa süre içinde iyileşmesi ve patognomonik semptomların gözlemlenmesi ve postmortem muayene esaslarına dayanmaktadır. Özellikle kanatlı koksidiyozu, Newcastle hastalığı, mikotoksikozlar, Tavukların bulaşıcı anemisi ve enfeksiyöz bronşit ile karıştırılmaktadır. Tüm akut vakalarda, bursal lezyonların varlığı IBD tanısına izin vermektedir. Subklinik vakalarda oluşan bursa atrofisi Marek hastalığı ve tavukların bulaşıcı anemisi ile karıştırılabilir. Bursa fabricius'un histopatolojik incelenmesi bu hastalık arasından ayırımının yapılmasına izin vermektedir (Luckert ve Saif, 2003).

Enfeksiyöz bronşit virusunun belirli nefropatojenik suşları nefroza neden olur (Winterfield ve Hitchner, 1962). Bu olgular, kloakal bursada herhangi bir değişiklik olmaması ve ölümlerin genellikle solunum bulgularından önce gelmesi ile IBD'den ayırt edilebilmektedir. Sürüde iki hastalığın aynı anda çıkma olasılığı göz ardı edilmemelidir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Bazı Marek hastalığı izolatları ile deneysel olarak bursal atrofi gözlemlenmiştir ancak atrofi enfeksiyondan 12 gün sonra gözlenmiştir ve histolojik yanıt IBD'de bulunandan belirgin şekilde farklıdır (Jakowski ve diğerleri, 1969). Makroskobik olarak uyluk ve göğüs kaslarında görülen hemorajiler Marek hastalığında pek rastlanmamaktadır. Marek hastalığında

enfeksiyondan sonra 25.günlerde görülen aşırı zayıflık, halsizlik, yürüme güçlüğü, parmakların içeriye doğru kıvrıklığı ve bir ayağın öne diğerinin arkaya doğru uzatılarak oturulması IBD'de gözlenmemektedir. Yine mikroskopik bozuklukların Marek hastalığında enfeksiyondan sonra yaklaşık 13.günlerde ortaya çıkmasıyla da Gumboro hastalığından ayırımını yapmak mümkün hale gelmektedir (Gürel, 1992).

Tip 8 kanatlı adenovirusu ile 1 günlük, SPF tavukların deneysel enfeksiyonlarında, inokulasyondan 2 hafta sonra küçük bursalar ve bursal folikül atrofisi üretmiştir (Grimes ve King, 1977). Karaciğer, dalak, pankreas ve böbrekler gibi diğer bazı organlar büyük ölçüde etkilenmiş ve karaciğer-pankreaasta intranükleer inklüzyon cisimciği gözlenmiştir (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.12.4. Seroloji

ELISA şu anda kanatlı sürülerinde IBDV antikorlarının değerlendirilmesi için en yaygın olarak kullanılan serolojik testtir. ELISA'da elde edilen antikor titreleri sonuçları ölçmek bilgisayar yazılım programlarına kolayca girilmesi Virus Nötralizasyon testine göre avantaj sağlamakta ve daha yaygın kullanım sağlamıştır (Marquardt ve diğerleri, 1980; Snyder ve diğerleri, 1994; Thayer ve diğerleri, 1987). Bu programlarla, damızlık sürüler üzerinde, sürü bağışıklık titrelerini gösterecek ve optimal bağışıklığın oluşturulabilmesi için bir antikor profili geliştirilmesine de olanak sağlamaktadır. Aşılama programlarının etkinliğinin değerlendirilmesinde ve bir antikor profili oluşturulmasında, sürüde en az 30 serum numunesi test edilmelidir. ELISA'nın serotip 1 ve 2'ye karşı oluşan antikorlar arasında bir ayırım yapamadığı ve ticari kitlerin her iki serotipe karşı olduğu bilinmelidir (Ismail ve diğerleri, 1988; Ashraf ve diğerleri, 2006). Hassas bir teknik olan ELISA'nın ve ELISA kitlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü hem laboratuvar içi hem de laboratuvarlar arası değişkenliklere bağlı farklı sonuçlar sunabilmektedir (Kreider, 1991). Bu nedenle, bir referans serum kontrol amacıyla diğer numuneler arasına eklenmesi tavsiye edilir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Rekombinant antijenlere (bir veya daha fazla antijenik epitop kombinasyonları halinde) dayalı ELISA geliştirilmiştir (Singh ve diğerleri, 2010). IBDV'nin VP2 bölgesine hedef alan ELISA reaktifleri, vektör veya alt birim aşılara verilen serolojik yanıtı izlemek için yararlı olabilir, çünkü aşılanmış tavuklarda bu proteine yönelik antikor yanıtını almak daha elverişlidir. Ayrıca vektör veya rekombinant aşılar da yer almayan (örneğin, bir VP3 ELISA antijeni kullanılarak) epitopların, ELISA testi reaktiflerinde yer almaması, aşıları hayvanları enfekte

hayvanlardan differensiyeye etmede “Differentiating Infected from Vaccinated Animals” (DIVA) önemli katkılar sağlamaktadır. Örneğin alt birim aşular (anti-VP3 antikorları olmadan), DIVA ilkesine göre enfekte hayvanlardan (anti-VP3 antikorları ile) ayırt edilebilir (Le Gros ve diğerleri, 2009; Müller ve diğerleri, 2012).

ELISA'nın kullanılmasından önce, antikor tespiti için en yaygın prosedür virus nötralizasyon testi olmaktadır (Skeeles ve diğerleri, 1979). Virus nötralizasyon testi, farklı IBDV serotiplerini ayırt edecek tek serolojik testtir ve bu virusun izolatları arasındaki antijenik varyasyonları ayırt etmek için hala tercih edilen yöntemdir. Virus Nötralizasyon testi için kullanılan indikatör virus, belirli bir serotip içinde birkaç antijenik alt tipin mevcudiyeti nedeniyle test sonuçlarında önemli bir fark yaratabilmektedir (Jackwood ve Saif, 1987). Farklı laboratuvarlarda çalışmak virus nötralizasyon edici titrelerin belirlenmesinde önemli farklılıklar da nadir değildir (Mekkes ve Wit, 2002). Sahadaki çoğu tavuk serumu, sahada maruz kalma, aşıya maruz kalma ve yüksek antikor düzeylerinden çapraz reaksiyonların bir kombinasyonu nedeniyle, geniş bir antijeniteye sahip çeşitli virus spektrumuna karşı yüksek düzeyde nötralizasyon edici antikorlara sahip olmaktadır (Eterradossi ve Saif, 2020).

2.13. Müdahale Stratejileri

Enfekte kanatlılar ve vektörlerle temas, enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu virusun birçok fiziksel ve kimyasal ajana karşı dirençliliği, bir sürüden diğer bir sürüye taşınma olasılığını artırabilmektedir. IBD mevcudiyetinde, kanatlı enfeksiyonunun yayılmasını önlemek için uygulanan sıhhi önlemler titizlikle uygulanmalıdır. Epidemiyolojik faktörlerle ilgili yapılan bir çalışmada, enfeksiyonunun yayılmasında bakım ve beslemeye yönelik faktörlerin de rolünün büyük olduğu anlaşılmıştır (Eterradossi ve Saif, 2020; Sanchez ve diğerleri, 2005).

2.14. Yönetim Prosedürleri

Atenüe aşı suşlarının geliştirilmesinden önce, IBD'yi kontrol etmek için civcivlerin bilerek erken yaşta enfeksiyona maruz bırakılması kullanılmıştır. Bu, hastalık geçmişi olan çiftliklerde uygulanmıştır. Ayrıca, 2 haftalık yaşta küçük civcivler hastalığa maruz kalsalar bile normalde klinik IBD belirtileri göstermezler. Erken IBD enfeksiyonlarının şiddetli immunsupresif etkisi tanımlandığı andan itibaren bu yöntem çekiciliğini yitirmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020).

IBDV ile etkin bir mücadele için, kapsamlı bir temizlik ve dezenfeksiyon işlemleri uygulanmalıdır ve virusun dirençli yapısı bu işlemler uygulanırken dikkate alınmalıdır (Etteradossi ve Saif, 2020).

2.15. İmmünizasyon

Tavukların aşılınması, tavuklarda IBD'nin önlenmesi için kullanılan başlıca yöntemdir ve IBD aşıları son yıllarda çeşitlendirilmiştir (Müller ve diğerleri, 2012). Özellikle civcivlerde maternal antikörün sağlanması için başta damızlık sürülerin bağışıklığı önemlidir. Maternal antikörler, civcivleri 1-3 hafta korur, ancak yağ adjuvanlı aşılarla damızlık sürüler aşılandığında, pasif bağışıklık 4-5 haftaya kadar uzayabilmektedir (Baxendale ve diğerleri, 1980; Lucio ve Hitchner, 1979).

IBDV oldukça bulaşıcıdır ve inaktivasyona çok dirençlidir. Bu nedenle, sıkı hijyenik önlemlere rağmen ve yüksek titrelerde virus saçılımının olduğu koşullarda, aşılama civcivlerde yumurtadan çıktıktan sonraki ilk haftalarda gerekli olabilmektedir. Damızlıklarda ise yağ adjuvanlı aşılar girilerek maternal antikörlerin oluşumu ve yeni nesillere aktarılması sağlanarak pasif bağışıklığa katkıda bulunulur bu amaçla canlı aşılar da damızlıklara uygulanabilir ve maternal antikör titreleri sağlanabilir. Gerek canlı gerekse inaktif aşılamalar sonrası damızlıklarda titreler bir sürü içerisinde önemli ölçüde değişkenlik gösterebilir ve aşı tekrarlarına ihtiyaç gösterebilmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Civcivlerde son yıllarda yaygın kullanım alanı bulan IBD aşısı tipi de "immün kompleks" aşılarıdır. Bu aşısı tipinin çalışma mekanizması; canlı IBD aşısı virusunun antijenik epitoplarına bağlanabilecek nötralizan maternal antikörler yerine, in vitro monoklonal antikörler ile kaplanması prensibine dayanır. Böylelikle canlı aşısı virusu maternal antikörlerden etkilenmez ve aşılama yaşı "in ovo" ya da yumurtadan çıkan 1 günlük civcivlere uygulama fırsatını sunmaktadır (Whitfill ve diğerleri, 1995; Jeurissen ve diğerleri, 1998).

Klasik atenüe IBDV aşıları ile genç civcivlerin aşılınmasındaki en büyük problem, maternal antikör titrelerine bağlı olarak en uygun aşılama zamanının belirlenmesidir. Civcivlerdeki maternal antikör titreleri, damızlık anaçlardaki aşısı virusunun virulansı, aşılama yolu ve maruz kalma seviyesine göre değişmektedir. Etkili bir aşısı programı geliştirirken çevresel stresler ve yönetim dikkate alınması gereken faktörleri hesaba katılmalıdır. Bir damızlık sürüsünde veya onun genetiğinde (sürü) antikör düzeylerinin izlenmesi aşılama için

uygun zamanın belirlenmesine yardımcı olabilir. Antikor titrelerini test eden, ELISA ve Virus Nötralizasyon testlerinin yavru civcivlerde aşı duyarlılığı için farklı zamanları sunabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (De Herdt, 2005). Bu nedenle aşı tarihlerinin hesaplanmasında kullanılan formülün kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Virulans ve antijenik çeşitliliğe dayalı olarak birçok canlı aşı seçeneği mevcuttur. Virulansla ilgili olarak, aşilar mild-mild intermediate-intermediate-intermediate plus-hot olarak sınıflandırılır. Klasik suşlarla kombinasyon halinde veya tek başına varyantları içeren aşilar da mevcuttur. Yüksek derecede virulent (hot), orta ve avirulent suşlar, sırasıyla 1:500, 1:250, 1:100'den düşük maternal virus nötralizasyon edici antikor titrelerini kırar (Lucio ve Hitchner, 1979; Skeeles, 1979). Ara suşların virulansları farklılık göstermekte ve 1 günlük ve 3 haftalık SPF tavuklarında bursal atrofi ve immunsupresyona neden olabilmektedir (Luckert ve Mazariegos, 1985). Maternal virus nötralizasyon antikor titreleri 1:1000'den azsa, civcivler avirulent virus suşları ile enjeksiyon yoluyla aşılatabilmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020). Bazı aşı virusları, timusta, dalakta ve bursa fabricius' ta çoğalır ve burada 2 hafta kalabilmektedir (Luckert ve Rifuliadi, 1982). Maternal antikor katabolize edildikten sonra, kalıcı aşı virusuna karşı birincil antikor yanıtı vardır. Enjeksiyondan önce bir intermediate-plus ile ölçülen miktarda IBDV antikorunun karıştırılmasıyla yapılan bir aşının, 1 günlük civcivleri maternal antikor varlığında bağışıklamak için tanımlandığı ancak şu anda kullanımda olduğu bildirilmiştir (Haddad ve diğerleri, 1997).

İnaktif virus aşiları genellikle genç tavuklarda birincil tepkiyi indüklemek için kullanılsa da pek tercih edilmez, ancak bazen 1 ila 10 günlük yaştaki etlik veya damızlık piliç civcivlerine bir doz enjeksiyon halinde de uygulandığı bildirilmiştir (Wyeth ve Chettle, 1990; Wyeth ve diğerleri, 1992). Yağ adjuvant aşiları şu anda IBDV'nin hem klasik hem de varyant suşlarını içerebilmektedir. Damızlık sürülerin antikor profilinin çıkarılması, aşılamanın etkinliğini ve antikorun kalıcılığını değerlendirmek için tavsiye edilmektedir (Etteradossi ve Saif, 2020).

Aşılarda kullanılan virüs için spesifik olan antikor (immunglobulin) aşı virüsü ile uygun oranda karıştırılır. Bu işlemin sonucunda virüs-antikor kompleksi (immun kompleks) aşilar oluşur. Kompleksteki antikor miktarı o kadar azdır ki pasif bağışıklığa veya aşı virüsünün nötralizasyonuna neden olmaz. Diğer taraftan aşıya eklenen antikor miktarı aşı virus replikasyonunun normal işleyişini birkaç gün erteleyebilecek kadardır. Bu da orta derecede zayıflatılmış aşı virüslerinin güvenli in-ovo uygulanmasını sağlar (Wit ve Baxendale, 2022).

18 günlük piliçlerde canlı IBDV aşısı uygulamalarının yanı sıra, “in ovo” immün kompleks aşısı uygulamaları iş gücü tasarrufu sağlaması ve maternal antikor blokajından kaçması bakımından güncel bir teknik uygulamadır. Enjekte edilen canlı bir IBD aşısının tek başına “in ovo” enjeksiyonu deneysel olarak, yumurtadan çıkma sonrası aşılamaya kıyasla, bursal lezyonların daha hızlı iyileşmesiyle sonuçlanır ve tehdiye karşı benzer bir koruma sağlamaktadır (Gagic ve diğerleri, 1999; Whitfill ve diğerleri, 1995; Rautenschlein ve Haase, 2005; Negash ve diğerleri, 2004).

IBDV antijenik gen bölgelerinin başka bir canlı rekombinant virusun genlerine klonlanması ile elde edilen vektör aşılarda sahada kullanım alanı bulmuştur. IBD vektör aşılarda kapsamında tavuk çiçeği virusu, hindi herpes virusu (HVT), Marek hastalığı virusu, tavuk adenovirusu (CELO) ve Newcastle hastalığı virusu yer almaktadır. Ek rekombinant aşısı virusları, antijenik spektrumlarını genişletmek veya aşısı kaynaklı antikorların farklılaşmasına izin vermek için modifiye edilmiş IBDV aşılarını içermektedir. Hâlihazırda piyasada bulunan rekombinant aşılarda, HVT’den türetilir ve yüksek düzeyde nötralize edici maternal antikorlara karşısında bile aktif bir anti-IBDV antikor tepkisini indüklemektedir (Bayliss ve diğerleri, 1991; Dartel ve diğerleri, 1995; Tsukamoto ve diğerleri, 1999; Francois ve diğerleri, 2004; Huang ve diğerleri, 2004).

Özellikle IBDV için akılcı bir aşılama programı uygulamak zordur; aşılama programlarının geliştirilmesinde hem aktif bağışıklığın hem de pasif bağışıklığın dikkate alınması gerekir. Pasif bağışıklık kritik bir öneme sahiptir çünkü civcivlerin IBDV’nin immunosupresif etkilerine daha duyarlı oldukları yaşamın erken dönemlerinde korunmaları gerekir (Lucio ve Hitchner, 1979). Civcivlerde bir örnek antikor titrelerinin olmamasıyla ilişkili maternal antikorların değişken seviyelerde olması nedeniyle, maternal antikor azalana kadar tekrarlanan aşılara ihtiyaç duyulmaktadır (Weisman ve diğerleri, 1978; Winterfield ve Thacker, 1978).

IBDV aşılarının koruyucu etkinliği geleneksel olarak spesifik patojen içermeyen (SPF) tavuklarda değerlendirilir. Ancak saha koşulları altında maternal antikor seviyeleri aşısı etkinliğine müdahale edebilir. Deneysel koşullarda intermediate aşılarda bunu yapmayabileceği gösterilmiştir (Alam ve diğerleri, 2002; Goddard ve diğerleri, 1994; Tsukamoto ve diğerleri, 1995; Van den Berg ve diğerleri, 1991). Genel olarak başarılı IBDV aşılması, aşılama zamanına, seçilen aşısı suşuna, sürünün maternal antikor seviyesine ve ayrıca

epidemiyolojik saha durumuna bağlı olmaktadır (Alam ve diğerleri, 2002; De Wit, 2003; Tsukamoto ve diğerleri, 1995).

Maternal bağışıklık, yönetimi ve mevcut operasyonel koşullardaki değişkenlik nedeniyle evrensel bir aşılama programı oluşturulamaz. Yüksek düzeyde maternal antikor titrelerindeki azalma 7 gün ile 2/ 3 haftaya kadar uzayabilir. Etlik piliçler 1 günlük yaşta aşılanacaksa, IBDV aşısı, Marek hastalığı aşısı ile enjeksiyon yoluyla uygulanabilir. Damızlık ikame tavukların replasmanı gerekebilir ve birçok üretici 10-14 haftalıkken canlı aşı ile aşılır. İnakatif yağ adjuvant aşıları genellikle 16.-18. Haftalarda uygulanır. Antikor profili, sürü titrelerinde büyük bir dşse işaret ediyorsa, yetiştiricilerin yeniden aşılatması gerekebilir (Etteradossi ve Saif, 2020).

IBD'de kullanılan aşıların apoptozu indüklediği yönünde birçok çalışma yapılmıştır. Killian ve diğerlerinin (2017) yaptığı bir çalışmada, deneye dahil edilen tüm kanatlıların Bursa fabricius'larının medullar alanındaki lenfositlerde TUNEL pozitif apoptotik görüntülere rastlanmıştır. 3., 7., 14., 21. ve 28. günlerde alınan örneklerde apoptotik hücre sayısında, kontrol gruplara göre artış gözlenmiştir. Yapılan değerlendirmenin tüm günlerinde aşılanmış gruplardaki apoptotik hücre sayısı aşılamadan sonraki 14.günden itibaren en yüksek değerlere ulaşmıştır. Bu aşıların formülasyonlarında kullanılan canlı virus suşu, patojenik virus suşun benzer Şekilde, apoptotizis yoluyla lenfositlerin ölümüne yol açtığı belirlenmiştir. En yüksek seviyelere aşılamadan yaklaşık 14 gün sonra ulaşılması; virusun sadece bursa fabricius'a doğrudan etkisinin olmadığını, aynı zamanda (diğer çalışmalarda da gözlemlendiği gibi) aşılama sonrası virus replikasyonu sürecinde yangısal reaksiyonların ortaya çıkmasıyla Şekillenen bir sürecin etkisine de bağlanmıştır. (Khatri & Sharma, 2007a; Kong ve diğerleri, 2004). Histopatolojik incelemeler de apoptozis ile ilgili bulguları destekler niteliktedir. Yangısal yanıtta özellikle makrofajların dikkate değer apoptotik etkilere sahip sitokin salınımlarını sergilemektedir (Qureshi, 1998; Khatri & Sharma, 2007a,b).

Nieper ve diğerlerinin (2010), yaptıkları bir çalışmada viral enfeksiyonun erken evrelerinde (inokulasyondan 2 gün sonra) apoptotik hücrelerin ağırlıklı olarak foliküllerin medullasında görüldüğünü belirtmişlerdir. Daha sonrasında, inokulasyondan 4 ve daha fazla gün sonra apoptotik hücre sayısının arttığını ve özellikle kortekste kromatin yoğunlaşması ve hücresel büzüşme tarzında tipik apoptoz morfolojileri gözlemlemişlerdir. Enfekte olmamış kontroller ise in situ TUNEL reaksiyonu, ağırlıklı olarak sadece kortiko-medullar sınırda az sayıda lenfositin apoptotizise sürüklendiği görülmüştür (Lam, 1997; Ojeda ve diğerleri, 1997).

Bursa fabricius B hücresi olgunlaşması nedeniyle apoptotik hücrelerin arka planını temsil eder. Bununla birlikte, enfekte olmayan kontrollerde, apoptotik hücreler ağırlıklı olarak medulla ve korteks arasındaki bir bölgede yoğunlaşırken, enfekte bursal bölümlerinde ise bu hücreler folikülün tüm bölümlerine yayılabilmektedir (Nieper ve diğerleri, 2010). IBDV hücreyi enfekte ettiğinde viral proteinler saptanabilir hale gelmeden önce enfeksiyon döngüsünün çok erken bir aşamasında apoptoz indüklenir. İn vitro Vero hücreleri ve tavuk embriyo fibroblastlarda saptanabilir viral antijen veya RNA olmadan enfeksiyonun çok erken evrelerinde, hızlı gelişen apoptoz belirtileri virus eliminasyonu için doğal immunitenin önemli belirteçlerinden biri olarak yorumlanmaktadır (Tham & Moon, 1996). Enfekte olmamış bursal hücreler de viral antijenler olsun veya olmasın diğer hücrelerden aldıkları sinyaller ile apoptoza hazırlanırlar (Nieper ve diğerleri, 2010).

2.16. Tedavi

IBDV enfeksiyonunun seyrini değiştirecek hiçbir pratik terapötik veya destekleyici tedavi bulunmamıştır (Parkhurst, 1964). Pasif olarak aktarılan antikorun, yüklemekten sonra periton içine enjekte edildiği deneysel immunoterapi, klinik belirtiler gösteren kanatlılardaki hastalık tablosunda büyük ölçüde gerilemeler sağlasa da bu yaklaşım sahada test edilmemiştir (Malik ve diğerleri, 2006).

Literatürde bazı yeni antiviral bileşiklerin ve interferon indükleyicilerinin IBD tedavisi için kullanımına ilişkin herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Ketotifen, IBDV aşılmasının 1 saat önce uygulanması bursal hasarın gelişmesini önlemek ve vvIBDV tehdidinin neden olduğu klinik belirtileri ve mortaliteyi azaltmak için deneysel olarak rapor edilmiştir, ancak veteriner hekimlikte lisanslı değildir (Wang ve diğerleri, 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Kuluçkadan yeni çıkmış (sıfırncı gün) toplam 55 adet broiler ırkı civcive immunkompleks bir aşı olan “Poulvac® Bursaplex® (Zoetis)” intramuskuler yolla enjekte edilerek aşılanmıştır. Kontrol amacı ile toplam 21 adet hayvana herhangi bir aşı uygulaması yapılmamıştır. Aşı enfekte ve kontrol grubundaki hayvanların ayrı ayrı odalarda kesintisiz su ve broiler yemi ile *ad libitum* beslenmesi sağlanmıştır. Denemeler 40.güne kadar devam etmiştir. Deneme odalarında deneme süresince 24 saat/gün aydınlatma programı uygulanmış olup; nispi nem %50-60 seviyesinde tutulup, sıcaklık denemenin ilk haftasında 33°C, ikinci haftasında 30°C, üçüncü haftasında 27°C, dördüncü haftasından itibaren 24°C'ye sabitletlenmiştir.

Aşı grubundaki hayvanlara inokulasyon sonrası 1., 3., 5. günlerde 5'er; 10., 20., 30. ve 40. günlerde 10'ar adet toplamda 55 civciv servikal dislokasyon yöntemiyle ötanazi edildi ve nekropsileri gerçekleştirildi (Etik kurul No:64583101/2022/46). Kontrol grubundaki hayvanlar da aynı günlerde 3'er toplamda 21 civciv aynı şekilde ötanazi edildi ve nekropsileri gerçekleştirildi. Bu hayvanlara ait Bursa fabricius'ların boyut ve ağırlık bilgileri inokulasyon günlerine göre kaydedildi. Tüm organlardan alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda 48 saat süre ile tesbit edildi.

3.1.2 Histopatolojik İnceleme

Formalin solüsyonu (%10) ile tespit edilen organ numuneleri 6-8 saat süre ile akan çeşme suyunda formalini giderildi ve trimleme işlemi gerçekleştirildi. Otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1020) bilinen yöntemlerle alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve ksilol serilerinde işlem gördükten sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler (Mikrotom, Leica RM 2135), hematoxilen ve eozin (HE) ile boyandı. Poly-L-Lysine kaplı adheziv lamlara alınan seri kesitler ise immunohistokimyasal boyamada kullanıldı.

3.2. İmmunohistokimya

3.2.1. İmmunohistokimya İçin Antiserum Üretimi

Çalışmanın immunohistokimyasal metotta kullanılacak primer antikor eldesi için 4kg ağırlığında 2 adet, erişkin Yeni Zelanda albino tavşanlar kullanıldı. Çalışma süresince hayvanların bakımı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Ünitesi'nde ayrı odalarda gerçekleştirildi. Deneme öncesinde tavşanların fiziksel muayenesi ve gaita muayeneleri yapıldı ve herhangi bir sağlık sorunu olmadığı görüldü ve denemeye alındı (Etik no:64583101/2022/46). Deneme süresince tavşanların ad libitum olarak yeme ve suya erişimi sağlandı. Antikor eldesi için, *İnfeksiyöz Bursal Hastalık* antijeni (1ml) ve Complete Freundadjuvanı (1ml) iyice emülsiyona edildikten sonra deri altı yolla tavşanlardan birine enjekte edildi. İlk enjeksiyondan 14 gün sonra IBDV antijen (1ml) ve Freund'in incomplete adjuvanı ile derialtına ikinci enjeksiyon ve buna meteakip 3 hafta sonra aynı dozlarda ve şekilde 3. enjeksiyon gerçekleştirildi. Son enjeksiyondan 10 gün sonra hayvanın kulak venasından 10 ml kan alındı ve serumu çıkartıldı. Bunu takiben 15 gün sonra tekrar aynı şekilde 10 ml kan alındı ve tekrar serumu çıkartıldı. Elde edilen antiserum immunohistokimyasal incelemelerde primer antikor olarak kullanıldı.

Tavşanlardan diğerine herhangi bir uygulama yapılmadı ve süreç sonunda kan alınıp serumu çıkartıldı. Bu serum kontrol olarak deneylerde kullanıldı.

3.2.2. Serum Aglütinasyon Testi

Tavşanlardan elde edilen serumlar, kontrol serumları ve antijen oda sıcaklığına (20-22°C) gelene kadar bekletildi. Serum dilüsyonu için 10 adet aglütinasyon tüpü alınarak, birinci tüpe 0,8ml, ikinci ve diğer tüplere 0,5ml %0,5 fenollü fizyolojik tuzlu su (FFTS) 29 kondu. Birinci tüpteki FFTS üzerine 0,2ml muayene edilecek serum ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra 1. tüpten 0,5ml alındı ve ikinci tüpe kondu, karıştırıldıktan sonra 0,5ml'si diğer tüpe aktarıldı. Bu sulandırma ve karıştırma işlemi son tüpe kadar devam etti. Son tüpten 0,5ml alınıp atıldı. Bu şekilde serum dilüsyonları 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80...

şeklinde oldu. Her tüpe 0,5ml üretmiş olduğumuz İnfeksiyöz Bursal Hastalık antijeni ilave edildi ve tüpler sallanarak iyice karıştırıldı. Serum-antijen karışımı oranları 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160... şeklinde hazırlandı. Tüpler 37°C’de inkübasyona bırakıldı ve 17-24 saat sonra sonuçlar okundu ve titrasyon en son 1/40.sulandırmaya kadar olanlarda alındı (Resim 1).



Resim 1. Serum aglütinasyon testi

3.2.3. İmmunohistokimyasal Metot

Poly-L-lysine kaplı lamlara alınan 0,5 mikron kalınlığındaki kesitler, immunohistokimyasal metotlarda kullanıldı. Alınan seri parafin kesitler, Labeled Streptavidin-Biotin (LSAB) metodunun öngördüğü şekilde ve ilgili firmanın önerileri doğrultusunda takip edildi. Kesitler, deparafinizasyon ve dehidrasyondan sonra antijenik reseptörlerin açığa çıkarılması amacı ile, sitrat buffer solüsyonunda (pH 6.0) su banyosu (95°C, 30 dk) ile işleme tabi tutuldu. Dokulardaki endojen peroksit aktivitesini önlemek için, hidrojen peroksit (H₂O₂) in metanoldeki (%3) çözeltisinde 15 dakika bekletildi ve spesifik olmayan antijenik bağlanmaları engellemek için %5’lik keçi serumunda 5 dakika tutuldu.

Çalışmada tavşandan elde edilen anti-IBDV antikoru (1/50 sulandırma) primer antikor olarak kullanıldı. Primer antikor uygulamasını takiben dokular sırasıyla, biotinlenmiş keçi anti-tavşan IgG immunoglobulin G ile 15 dakika inkübe edildi. Ardından tüm kesitler PBS ile üç defa yıkanıp streptavidin-horse peroksidaz ile 15 dakika inkübe edildi. Devamında tüm kesitler PBS ile üç defa yıkandı. Kesitler, 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) kromojen solüsyonu ile 15 dakika süreyle inkübe edilerek kromojenik reaksiyon elde edildi. Son olarak arka plan boyaması için kesitler Mayer's Hematoksilen solüsyonuna daldırılıp çıkarıldı, musluk suyunda yıkanarak su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı.

4. BULGULAR

4.1. Nekropsi Bulguları

Nekropsi muayenesinde inokülasyon sonrası günlerine göre oluşturulan gruplarda; virusun en çok lokalizasyon gösterdiği başta Bursa fabricius, dalak ve timus olmak üzere ve diğer dokular (kemik iliği, timus ve ince bağırsak segmentleri) makroskopik olarak incelendi. İncelenen dokuların hiçbirinde makroskopik bir değişiklik dikkati çekmedi.

Aşı grubundaki hayvanların Bursa fabricius'larının ağırlıkları, kontrol grubundakiler ile karşılaştırıldığında belirgin farklılıklar görüldü.

Tablo 2. İnokülasyon sonrası günlere göre Bursa fabricius' ların ağırlıkları (gr)

Doku	1.Gün	3.Gün	5.Gün	10.Gün	20.Gün	30.Gün	40.Gün
Bursa fabricius	n1:0,134 n2:0,141 n3:0,146 n4:0,152 n5:0,157	n6: 0,196 n7: 0,198 n8: 0,210 n9: 0,215 n10:0,217	n11:0,201 n12:0,234 n13:0,268 n14:0,270 n15:0,298	n16:0,343 n17:0,368 n18:0,396 n19:0,399 n20:0,449 n21:0,450 n22:0,452 n23:0,458 n24:0,462 n25:0,463	n26:1,040 n27:1,084 n28:1,098 n29:1,110 n30:1,158 n31:1,198 n32:1,249 n33:1,269 n34:1,261 n35:1,277	n36:1,272 n37:1,276 n38:1,284 n39:1,296 n40:1,297 n41:1,309 n42:1,311 n43:1,316 n44:1,325 n45:1,339	n46:1,344 n47:1,448 n48:1,397 n49:1,467 n50:1,496 n51:1,519 n52:1,539 n53:1,634 n54:1,601 n55:1,612
Bursa fabricius (Kontrol Grubu)	k1:0,758 k2:0,789 k3:0,812	k4: 0,810 k5: 0,860 k6: 0,900	k7:1,502 k8:1,498 k9:1,535	k10:2,116 k11:2,214 k12:2,134	k13:2,612 k14:2,688 k15:2,746	k16:3,681 k17:3,782 k18:3,815	k19:4,945 k20:5,136 k21:5,637

Tablo 3. İnokulasyon sonrası günlere göre Bursa fabricius' ların boyutları (cm)

Doku	1.GÜN	3.GÜN	5.GÜN	10.GÜN	20.GÜN	30.GÜN	40.GÜN
Bursa fabricius	n1:0,5 n2:0,5 n3:0,5 n4:0,6 n5:0,6	n6:0,6 n7:0,6 n8:0,7 n9:0,7 n10:0,7	n11:0,7 n12:0,7 n13:0,8 n14:0,8 n15:0,8	n16:0,9 n17:0,9 n18:0,9 n19:1 n20:1 n21:1 n22:1 n23:1,1 n24:1,1 n25:1,1	n26:1,4 n27:1,4 n28:1,4 n29:1,5 n30:1,5 n31:1,5 n32:1,5 n33:1,5 n34:1,5 n35:1,6	n36:1,9 n37:1,9 n38:1,9 n39:2 n40:2 n41:2 n42:2 n43:2 n44:2,1 n45:2,1	n46:2,1 n47:2,1 n48:2,2 n49:2,3 n50:2,3 n51:2,4 n52:2,4 n53:2,4 n54:2,5 n55:2,5
Bursa fabricius (Kontrol Grubu)	k1:0,8 k2:0,8 k3:0,9	k4:1 k5:1,1 k6:1	k7:1,5 k8:1,5 k9:1,6	k10:2 k11:2 k12:2,1	k13:2,4 k14:2,4 k15:2,5	k16:2,7 k17:2,8 k18:2,8	k19:2,9 k20:3 k21:3,3

4.2 Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değişikliklerin çoğunluğu Bursa fabricius'ta lokalize idi. Diğer bulgular ise, dalakta IBDV antijen sunumu ile şekillenen B lenfosit aktivasyon oluşumlarına ilişkin primer follikül gelişimleri idi. Kemik iliği ve timusta ödem dışında belirgin bir mikroskobik değişikliğe rastlanmadı. Lenfoid dokular dışındaki diğer organlarda kayda değer herhangi bir lezyona rastlanmadı.

Bursa fabricius'ta şekillenen lezyonların şiddeti 5 katogoride değerlendirildi. (+1) lezyon şiddetinde; Bursa fabricius'ta lenfoid folliküllerinde ve interfolliküler alanların gevşek bir yapıda ve kollagen doku ayrılmaları ile karakterize ödem bulgusu idi (Resim 2). (+2) lezyon şiddetinde; (+1) şiddetine ilaveten folliküllerdeki lenfositlerde tek tük nekrozlar ile (çoğunluğu karyopiknoz ve karyoreksis) hafif folliküler atrofydi (Resim 3). (+3) lezyon şiddetinde; +2 lezyon şiddetine göre lenfositlerdeki nekroz sayıları artmış ve folliküler atrofi daha belirgin

hale gelmişti (Resim 4 ve 5). Bunun yanı sıra subepitelial ve interfolliküler alanlarda belirgin mononükleer hücre infiltrasyonun görülmesiydi. (+4) lezyon şiddetinde; Bursa fabricius'ta lenfoid folliküllerdeki lenfositlerdeki nekrotik değişiklikler hemen follikülün tamamını kapsamakta ve folliküller atrofi çok daha belirgin halde olup, interfolliküler fibröz doku proliferasyonu folliküler atrofiye eşlik etmekteydi; ayrıca bazı folliküllerde retiküler doku nekrozunun oluşumu ile litik kistik oluşumların yer almasıydı (Resim 6). (+5) lezyon şiddetinde: çok şiddetli atrofik folliküller, nekroza bağlı şiddetli lenfosit kayıpları ve kistik oluşumlar ile şiddetli folliküller atrofi ve şiddetli interfolliküler bağ doku proliferasyonunun doku bütünlüğüne hâkim olması idi (Resim 7). Kontrol gruplarındaki hayvanların Bursa fabricius'larında herhangi bir mikroskobik değişiklik seçilemedi.

Bursa fabricius, ilk inokülasyon sonrası birinci, üçüncü ve beşinci günlerinde ötanazi edilen toplam 15 civcivde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. İnokulasyondan sonraki 10. gününde ötanazi edilen 10 civcivden dördünde (+1) şiddetinde lezyon kaydedildi. İnokulasyondan sonraki 20 ve 30. günlerinde ötanazi edilen civcivlerde, 10. günden farklı olarak, ödemin yanı sıra çok belirgin şekilde lenfoid folliküllerin özellikle medullar bölgelerinde boşalma ile birlikte, karyolizis, karyoreksis ve piknozla karakterize lenfositlerin nekrozuyla karakterize (+4; +5) şiddetine ulaşan lezyonlar dikkati çekti. Bunun yanı sıra dört olguda follikül çaplarının belirgin şekilde küçüldüğü ve interfolliküler alanda şiddetli bağ doku proliferasyonlarının geliştiği gözlemlendi. İnokulasyondan sonraki 40. gününde ötanazi edilen 10 civcivde ise (+4; +5) lezyon şiddetinin gerileyerek, 6 olguda (+3) şiddetinde, iki olguda (+2) ve bir olguda (+1) şiddetinde sınırlı kaldığı belirlendi (Tablo 4). Kontrol grubunda yer alan ve IBD aşısı inokülasyonu yapılmayan civcivlerin Bursa fabricius'larında histopatolojik bir bulgu kaydedilmedi.

Dalak dokusunda IBD virusuna ilişkin dentritik hücrelerin dalağa gelmesi ve B lenfosit aktivasyon alanlarına ilişkin şekillenen primer follikül oluşumları 5 katogoride değerlendirildi. 20'lik objektifte taranan 10 sahada hiç follikül görülmemesi (-); ortalama bir primer follikül (+1); ortalama iki primer follikül (+2); ortalama üç primer follikül (+3); ortalama dört primer follikül (+4); beş ve üzeri primer follikül sayısı ise (+5) olarak değerlendirildi (Tablo 4).

Dalakta, inokulasyondan sonraki birinci, üçüncü ve beşinci günlerinde ötanazi edilen toplam 15 civcivde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. İnokulasyondan sonraki 10. günündeki toplam 10 hayvandan 4'ünde; dentritik hücrelerce sunulan viral antijenin olgunlaşmakta olan B lenfositlere sunulması ile sentroblastik, sentrositik ve plazma hücrelerin gelişim gösterdiği germinal merkez morfolojili primer follikül oluşumlarına 4 olguda (+1

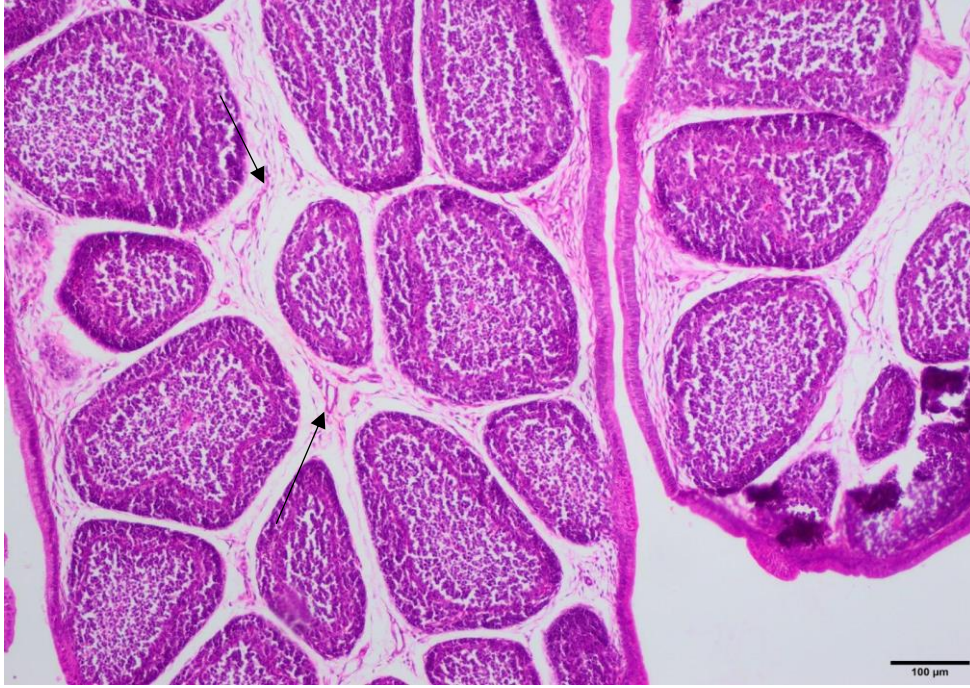
şiddetli) rastlanıldı. İnokulasyondan sonraki 20, 30 ve 40. günlerinde ötanizi edilen toplam 30 civcivin tamamında (+1)'den (+5) şiddetine ulaşan primer follikül oluşumlarının gerçekleştiği gözlemlendi (Resim 8). Kontrol grubunda yer alan ve IBD aşısı inokulasyonu yapılmayan civcivlerin dalaklarında histopatolojik bir bulgu kaydedilmedi.

Tablo 4. Bursa fabricius ve dalak dokusunda görülen histopatolojik lezyonların şiddet derecesi

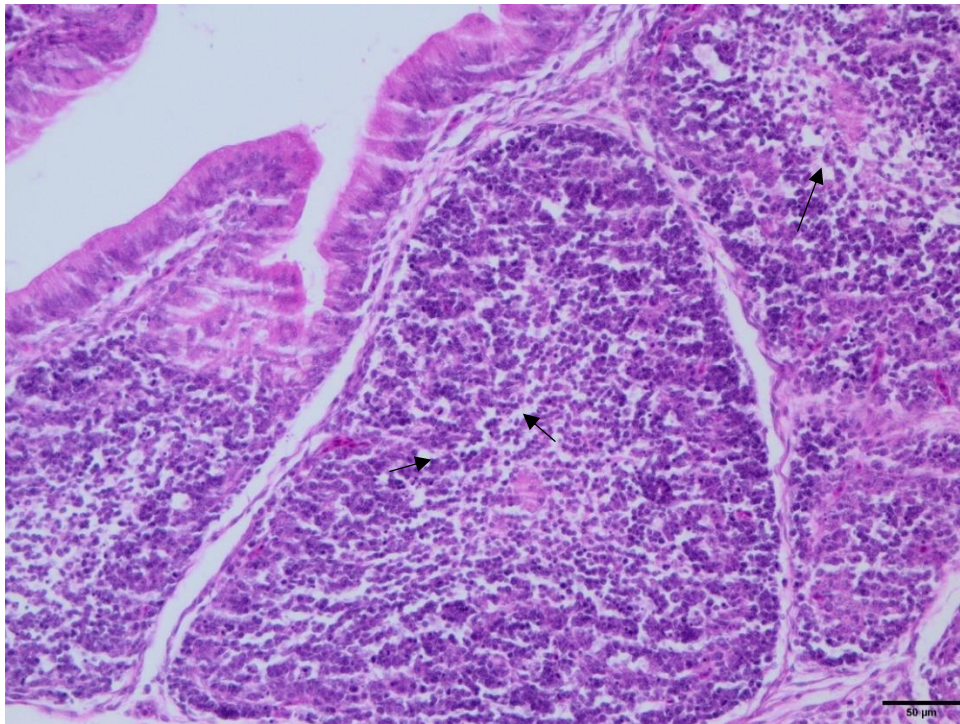
Organ	İS 1. Gün; n=5	İS 3. Gün n=5	İS 5. Gün n=5	İS 10. Gün n=10	İS 20. Gün n=10	İS 30. Gün n=10	İS 40.gün n=10
B Fabricius	(-)/5	(-)/5	(-)/5	(-)/4 (+1)/6	(+2)/3 (+3)/3; (+4)/2; (+5)/2	(+2)/4; (+3)/4; (+4)/2	(+1)/2 (+2)/2; (+3)/6;
Dalak	(-)/5	(-)/5	(-)/5	(-)/6; (+1)/4	(+2)/4; (+3)/3; (+4)/1; (+5)/2	(+1)/1; (+3)/2; (+4)/4; (+5)/3	(+2)/2 (+3)/2 (+4)/5 (+5)/+1

n:inokulasyon sonrası günler olgu sayısı; Histopatolojik lezyon şiddeti / Olgu sayısı

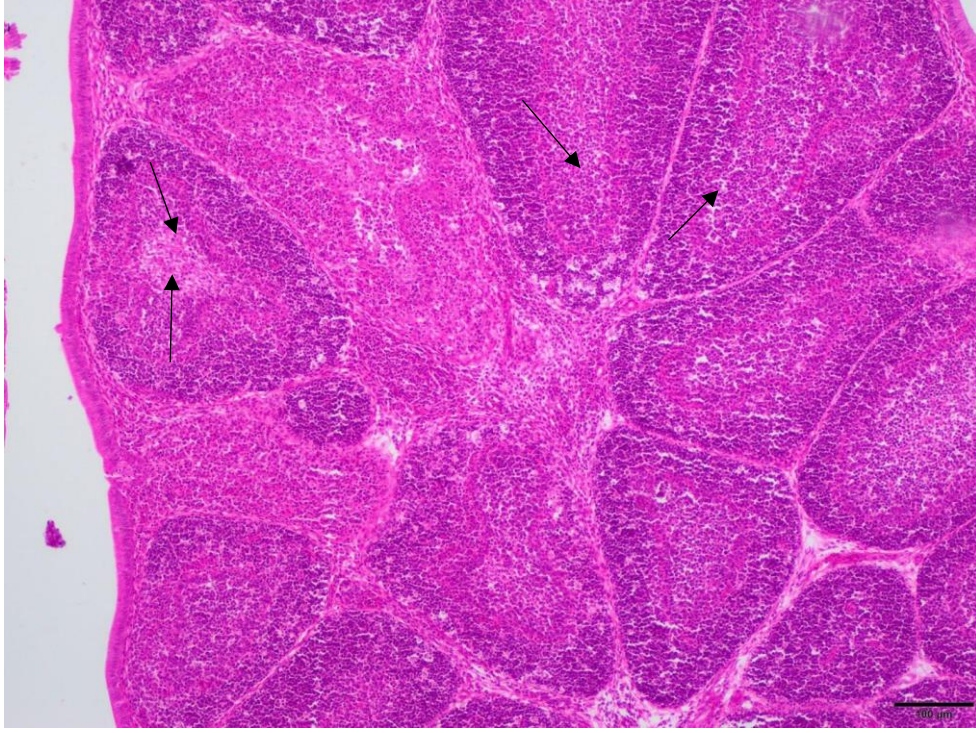
(-): Lezyon yok; (+1): Hafif şiddetli, (+2; +3): Orta şiddetli, (+4; +5): Şiddetli



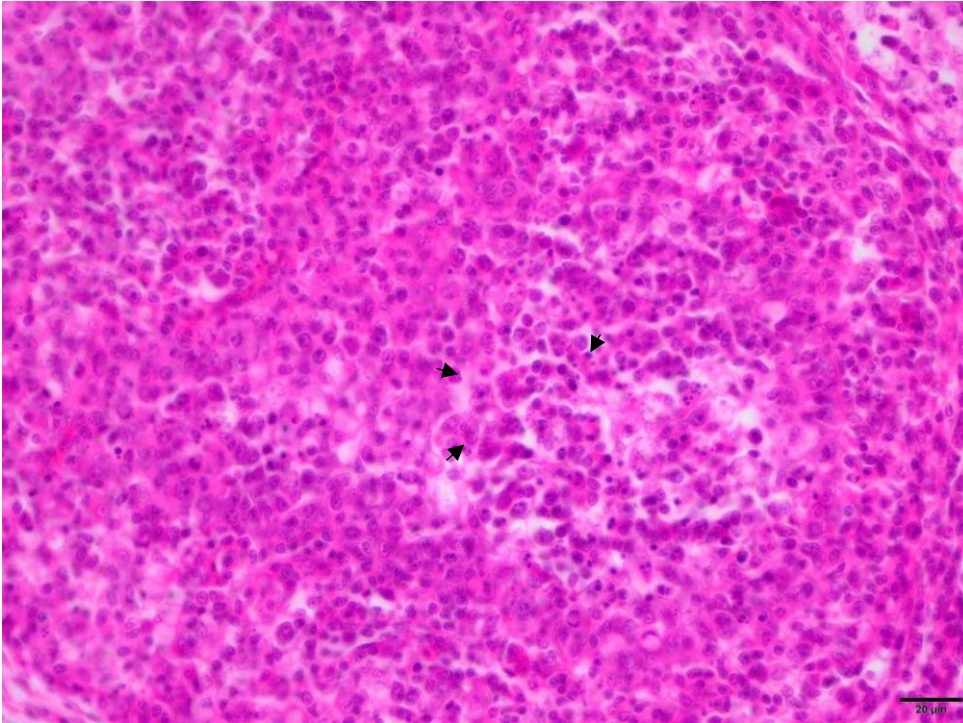
Resim 2. İnterfolliküler alanın gevşek bir yapıda ve kollegen ipliklerde ayrılmalar ile karakterize ödem bulgusu (Oklar) (+1 şiddetinde lezyon). Bursa Fabricius, İS 3. Gün. HE.



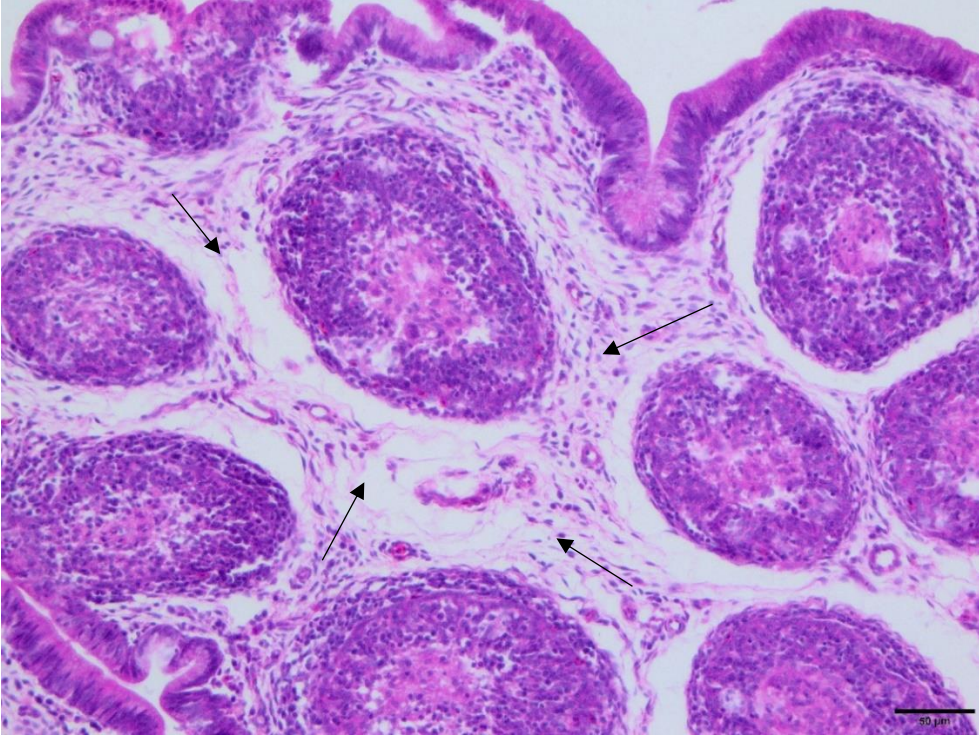
Resim 3. Hafif folliküler atrofi, folliküllerin merkezi kısımlarında hafif lenfoid boşalma, lenfositlerde tek tük karyopiknoz ile karakterize (+2) şiddetinde lezyon (Oklar). Bursa Fabricius, İS 10. gün. HE.



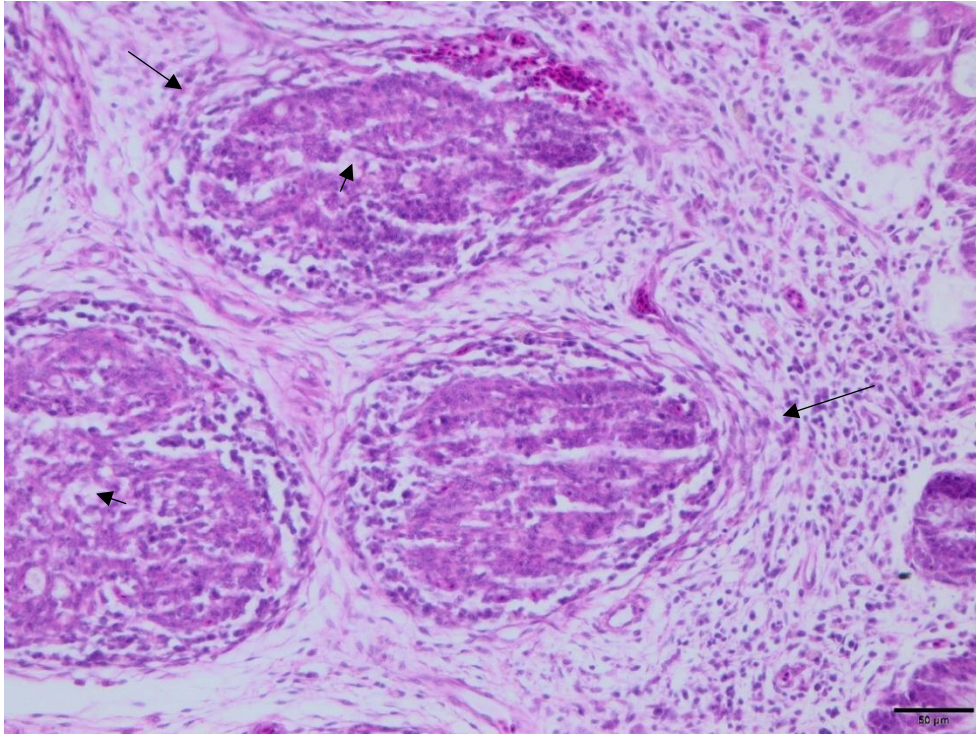
Resim 4. Belirgin folliküler atrofi, folliküllerde göze çarpan şekilde lenfosit nekrozu ile lenfoid boşalma ile karakterize (+3) şiddetindeki bulgular (Oklar). Bursa Fabricius, İS 20. Gün. HE.



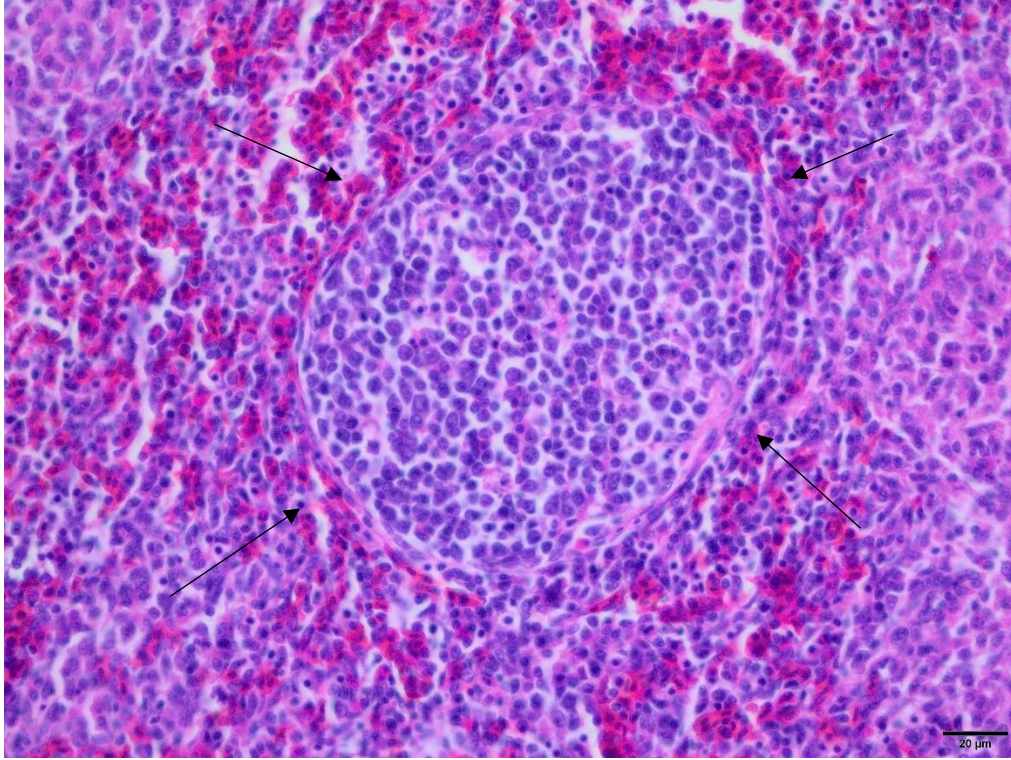
Resim 5. (+3) şiddetindeki lezyonun daha yakın büyütmedeki lenfositlerde karyopiknoz ve karyoreksis morfolojileri (Ok başları). Bursa Fabricius, İS 20. Gün. HE.



Resim 6. Lenfoid folliküllerdeki lenfositlerdeki nekrotik değişiklikler hemen follikülün tamamını kapsayarak folliküller atrofisinin çok daha belirgin hale geldiği ve buna interfolliküler fibröz doku proliferasyonunun eşlik ettiği (+4) şiddetindeki bulgular (Oklar). Bursa Fabricius, İS 30. gün. HE.



Resim 7. Lenfoid nekroz ile birlikte folliküller atrofisinin (Ok başları) ve de bağdoku interfolliküler fibröz doku proliferasyonunun (Oklar) daha da baskın hale geldiği (+4) şiddetindeki bulgular. Bursa Fabricius, İS 20. Gün. HE.



Resim 8. Viral antijenin olgunlaşmakta olan B lenfositlere sunulması ile sentroblastik, sentrositik ve plazma hücrelerin gelişim gösterdiği germinal merkez morfolojili primer follikül oluşumları (Oklar) , Dalak. 30. gün. HE.

4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular

IBD virus aşısı enfekte hayvanların Bursa fabricius, dalak, timus, bağırsak, kemik iliği ve böbrek dokularında şekillenen immunreaksiyonların şiddeti 5 kategoride semikantitatif olarak değerlendirildi (Tablo 4). Bursa fabriciusta'ki değerlendirmede; IBD virus antijeni yalnızca 1-2 follikülde ve fokal alanlarda sınırlı immunopozitiflik (+1); 1-2 folliküldeki diffuz dağılımlı immunopozitiflik (+2); 3-5 folliküldeki fokal dağılımlı pozitiflik (+3); 3-5 follikülde diffuz dağılımlı pozitiflik (+4); 6 ve üzeri folliküldeki pozitiflik (+5) olarak değerlendirildi. Diğer dokulardaki immuopozitiflik 1-3 hücrede (+1), 4-6 hücrede pozitiflik (+2), 7-9 hücrede pozitiflik (+3), 10-12 hücrede pozitiflik (+4); 13 hücreden daha fazla pozitiflik (+5) olarak değerlendirildi.

İnokulasyondan sonraki sonrası birinci gününde ötanazi edilen 5 civcivden 4'ünün Bursa fabricius'larında, yalnızca 1-2 follikülün medullar bölgesinde fokal bir alanı kapsayacak

şekilde lenfositlerde hafif derecede (+1;+2) immunopozitif reaksiyonlara rastlandı (Resim 9). İnokulasyondan sonraki üçüncü, beşinci ve onuncu günlerinde ötanazi edilen bütün civcivlerin Bursa Fabricius'larında immunopozitiflikler saptanmış olup, pozitifliklerin dağılımı genel olarak orta ve şiddetli bir görünüm sergilemişti. Ayrıca inokulasyondan sonraki 3. Gününden sonra ötanazi edilen çoğu olgunun epitelial tabakasında da immunopozitif reaksiyonlar gözlemlendi. İnokulasyondan sonraki 20. gününde de pozitifliklerin dağılımı ve şiddeti +3 ile +5 arasında kalırken, inokulasyondan sonraki 30. ve 40. günlerinde ise pozitifliklerin şiddeti azalmış, orta (+2, +3) ve hafif (+2, +1) düzeyde kalmıştı. Kontrol grubunda yer alan ve IBD aşısı inokulasyonu yapılmayan civcivlerin Bursa fabricius'larında IBD virus antijen immunopozitif reaksiyonlar kaydedilmedi.

IBD virus aşısı verilen hayvanların dalak dokularında, ilk immunopozitif reaksiyonlara inokulasyondan sonraki 1. günde 5 civcivden 3'ünde lenfoid hücrelerde görülürken, inokulasyondan sonraki üçüncü günde 5 olgudan 4'ünde, inokulasyondan sonraki 5. gününde bütün olgularda saptandı. Dalakta immunopozitifliklerin dağılımı ve şiddeti inokulasyondan sonraki 10. ve 20. günlerindeki olgularda orta (+3) ve şiddetli (+4, +5) düzeye çıkarken (Resim 12); inokulasyonun 30. ve 40. günlerinde ise immunopozitifliklerin şiddetinde düşmeyle birlikte bazı olgularda da hiç saptanmadı.

Timus dokusu, IBD virus antijenin en yoğun şekilde lokalize olduğu organlardan biriydi. İnokulasyondan sonraki birinci günde beş hayvandan yalnızca birinde hafif (+1) immunopozitiflik görülürken; inokulasyondan sonraki üçüncü, beşinci ve onuncu gündeki bütün olgularda medullar bölgede yer alan özellikle hassal korpüskülü epitellerinde ve lenfositlerde genel olarak orta (+2, +3) şiddette bir viral antijen tutunumu gözlemlendi. Bazı olguların korteks tabakasında daha hafif tutulumlu immunopozitifliklere de rastlandı. İnokulasyondan sonraki 20. günde timusta immunopozitifliklerin dağılımı şiddetlenirken (Resim 13 ve 14), inokulasyondan sonraki 30. ve 40. Günlerde orta ve hafif şiddette bir dağılım göstermişti. Kontrol grubu hayvanların timuslarında immunopozitif reaksiyonlar kaydedilmedi.

Bağırsaklarda, inokulasyondan sonraki birinci ve üçüncü günde ötanazi edilen hayvanlardan yalnızca birer olguda lamina propriyadaki lenfoid hücrelerde hafif şiddette immunopozitif reaksiyonlar not edildi. İnokulasyondan sonraki diğer günlerde ise bağırsaklarda immunopozitifliklere rastlanmadı.

Kemik iliğinde, inokulasyondan sonraki birinci günde beş hayvandan üçünde hafif (+1) immunopozitiflik görülürken; inokulasyondan sonraki üçüncü ve beşinci gündeki bütün

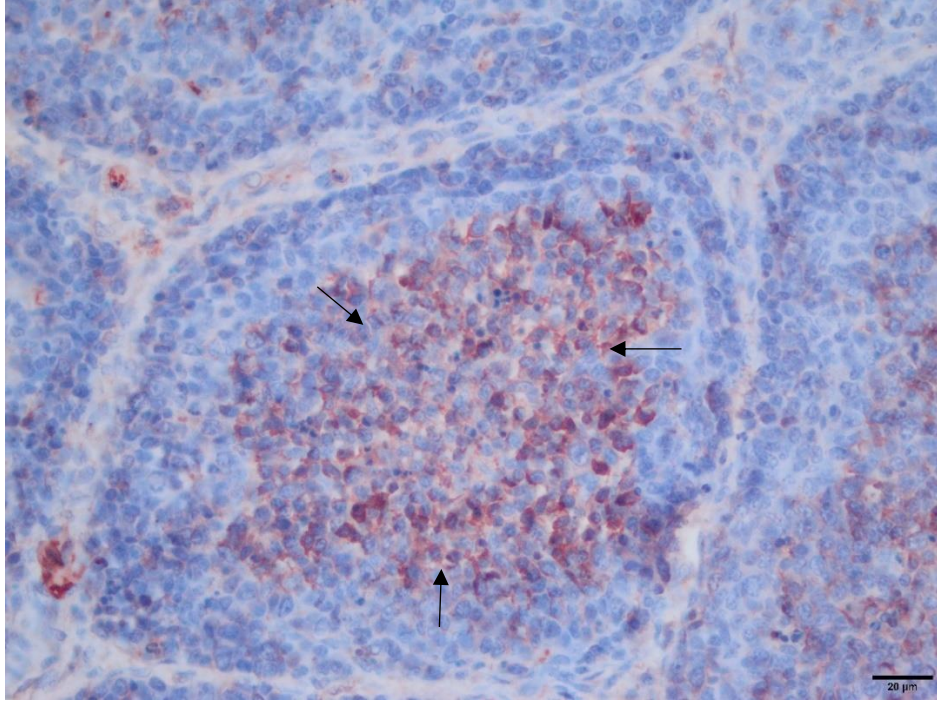
olgulara lenfoid hücrelerde genellikle orta şiddette (+2, +3) bir viral antijen immunopozitifliği saptandı. İnokulasyondan sonraki 10 ve 20. günlerde pozitifliklerin şiddeti artarken, inokulasyondan sonraki 30 ve 40. günlerde bir düşme eğilimine girdiği farkedildi. Kontrol grubu hayvanların kemik iliğinde immunopozitif viral antijen varlığı görülmedi.

Böbrek dokusunda; ilk viral antijen tutulumu inokulasyondan sonraki birinci günde beş hayvandan ikisinde hafif (+1) immunopozitiflik görülürken; inokulasyondan sonraki üçüncü ve beşinci gündeki hemen bütün olguların korteks tubulus epitel sitoplazmalarında hafiften şiddetliye kadar değişen bir pozitiflik dikkati çekti (Resim 15). İnokulasyondan sonraki 10. günden itibaren böbreklerde immunopozitif reaksiyonların görülme oranı azalmaya başladığı, 30. ve 40. günlerdeki birçok olguda ise pozitif reaksiyonlara rastlanmadığı kaydedildi. Kontrol gurubu hayvanların böbreklerinde IBD viral antijen immunopozitiflikler saptanmadı.

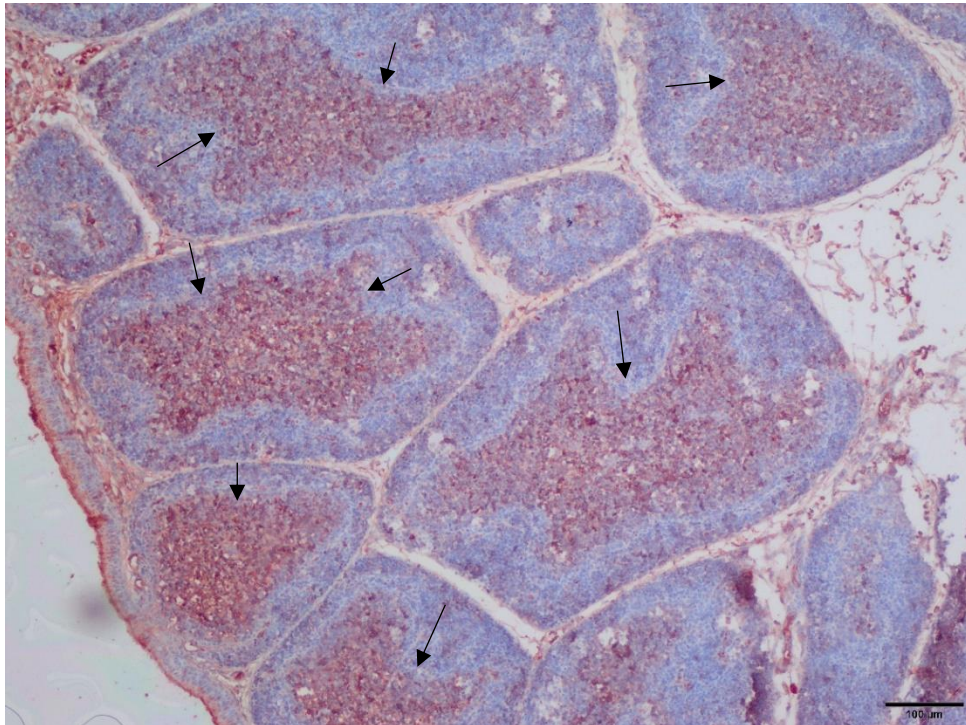
Tablo 5. Çalışmayı oluşturan dokularda meydana gelen immunopozitif reaksiyonların şiddet derecelendirmesi

Dokular	İS 1. Gün; n=5	İS 3. Gün n=5	İS 5. Gün n=5	İS 10. Gün n=10	İS 20. Gün n=10	İS 30. Gün n=10	İS 40.gün n=10
Bursa Fabricius	(-)/1; (+1)/2; (+2)/2	(+1)/1; (+2)/2; (+3)/1 (+4)/1	(+2)/2; (+3)/2 (+5)/1	(+2)/3 (+3)/3 (+4)/3 (+5)/1	(+2)/2; (+3)/3; (+4)/2 (+5)/3	(+1)/2; (+2)/4; (+3)/3 (+4)/1	(+1)/3; (+2)/6; (+3)/1
Dalak	(-)/2; (+1)/3;	(-)/1; (+1)/2; (+2)/2;	(+1)/1; (+3)/4;	(+1)/2; (+2)/3; (+3)/3; (+4)/2	(+1)/1; (+2)/2; (+3)/4; (+4)/3	(+1)/3; (+2)/5 (+3)/2;	(-)/3; (+1)/5; (+2)/2
Timus	(-)/4; (+1)/1	(-)/1 (+1)/3; (+3)/1;	(+1)/1; (+2)/2; (+3)/1	(+1)/1; (+2)/2; (+3)/1	(+2) (+3)/3 (+4)/3 (+5)/2	(+1)/4; (+2)/3; (+3)/3	(-)/4; (+2)/2 (+1)/4
Bağırsak	(-)/4 (+1)/1	(-)/4 (+2)/1	(-)/5	(-)/10	(-)/10	(-)/10	(-)/10
Kemik iliği	(-)/2; (+1)/3	(+1)/2; (+2)/1 (+3)/2	(+1)/1; (+2)/2 (+3)/2	(+1)/1; (+2)/3 (+3)/4 (+4)/2	(+2)/3 (+3)/4 (+4)/2 (+5)/1	(+2)/4 (+3)/4 (+4)/1 (+5)/1	(+1)/3 (+2)/4 (+3)/2 (+4)/1
Böbrek	(-)/3; (+1)/2	(-)/3 (+1)/1 (+3)/1	(+1)/1 (+2)/2 (+3)/1 (+4)/1	(-)/4; (+1)/4 (+2)/2	(-)/6; (+1)/4	(-)/7; (+1)/3	(-)/9; (+1)/1

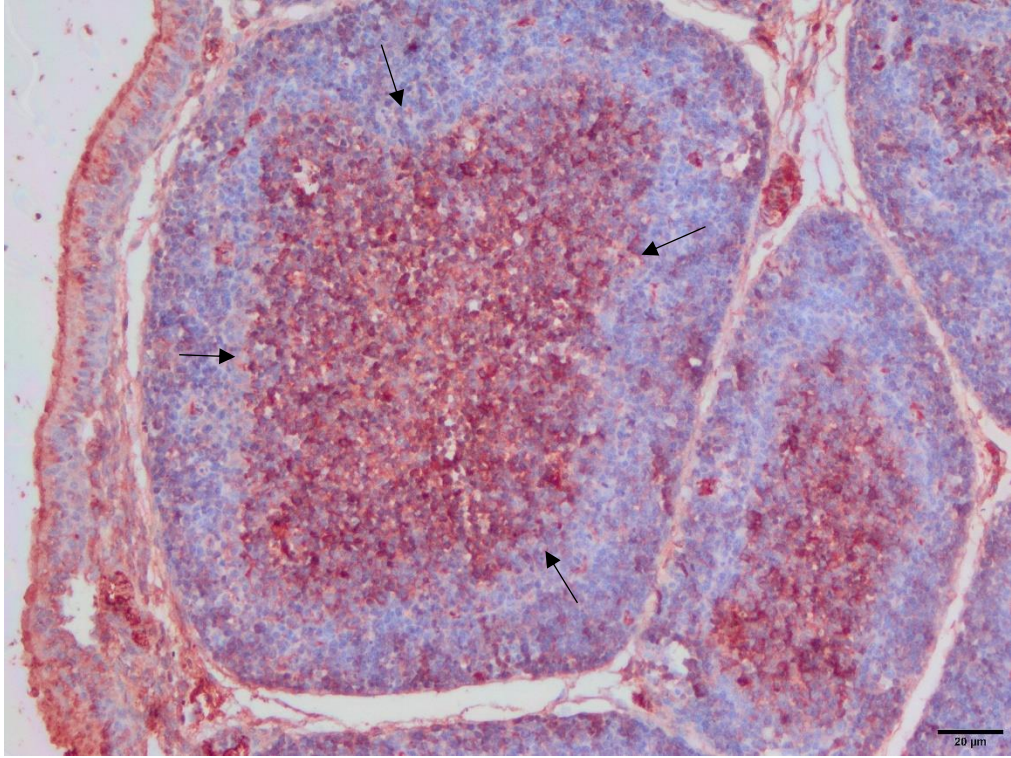
n:inokulasyon sonrası günler olgu sayısı; İmmunopozitiflik / Olgu sayısı (-): İmmunopozitiflik yok;
(+1): Hafif immunopozitiflik, (+2; +3): Orta şiddetli immunopozitiflik, (+4; +5): Şiddetli immunopozitiflik



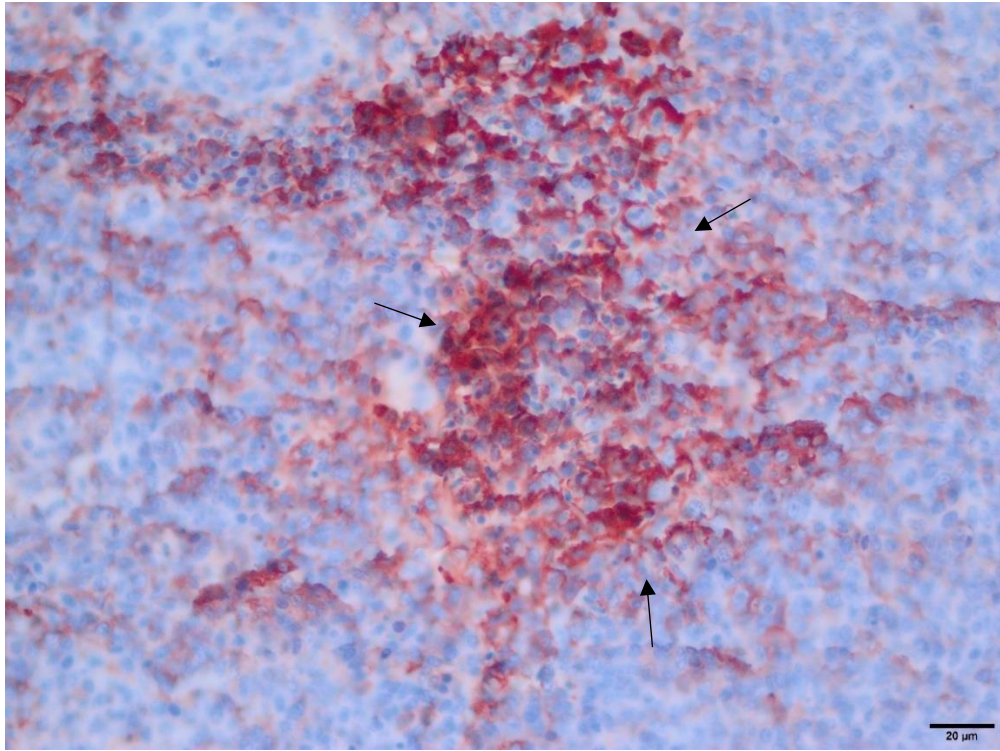
Resim 9. IBD virus antijenin yalnızca fokal alanda yalnızca 1-2 follikülün medullar bölgesindeki lenfositlerin sitoplazmalarındaki (+2) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonlar (Oklar) , Bursa Fabricius. İS 3. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.



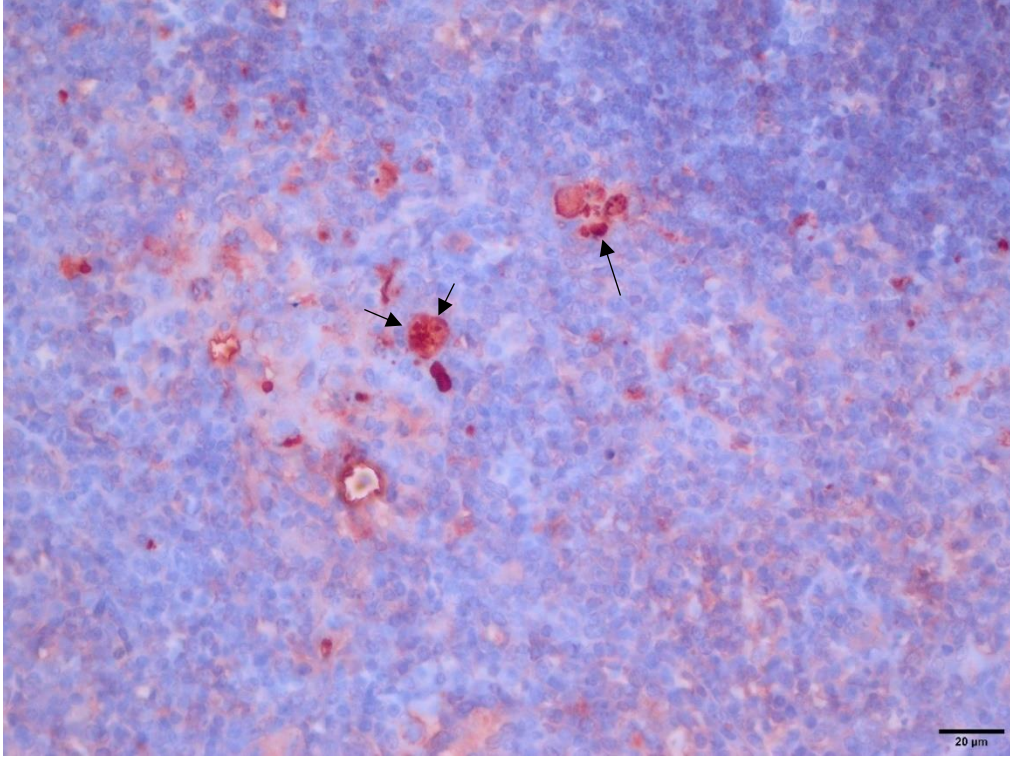
Resim 10. IBD virus antijenin geniş bir alanda birçok follikülün medullar bölgesindeki lenfositlerde diffuz bir şekilde (+5) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonlar (Oklar), Bursa Fabricius. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.



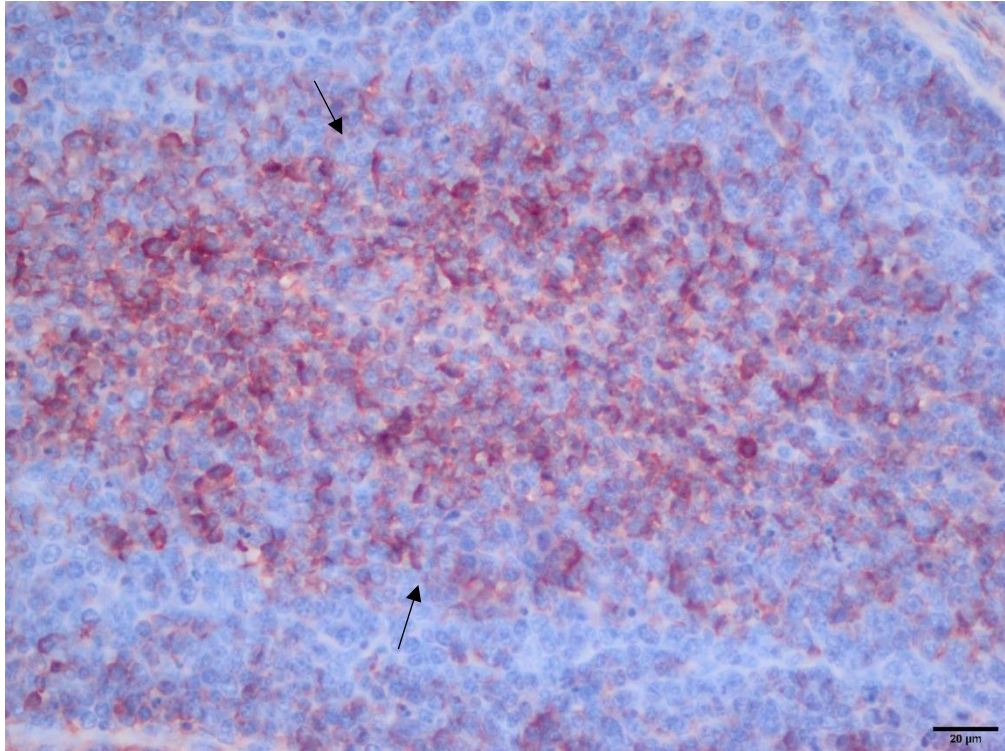
Resim 11. Resim 10'un daha yakın büyütmeye görünümü (Oklar) , Bursa Fabricius. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit



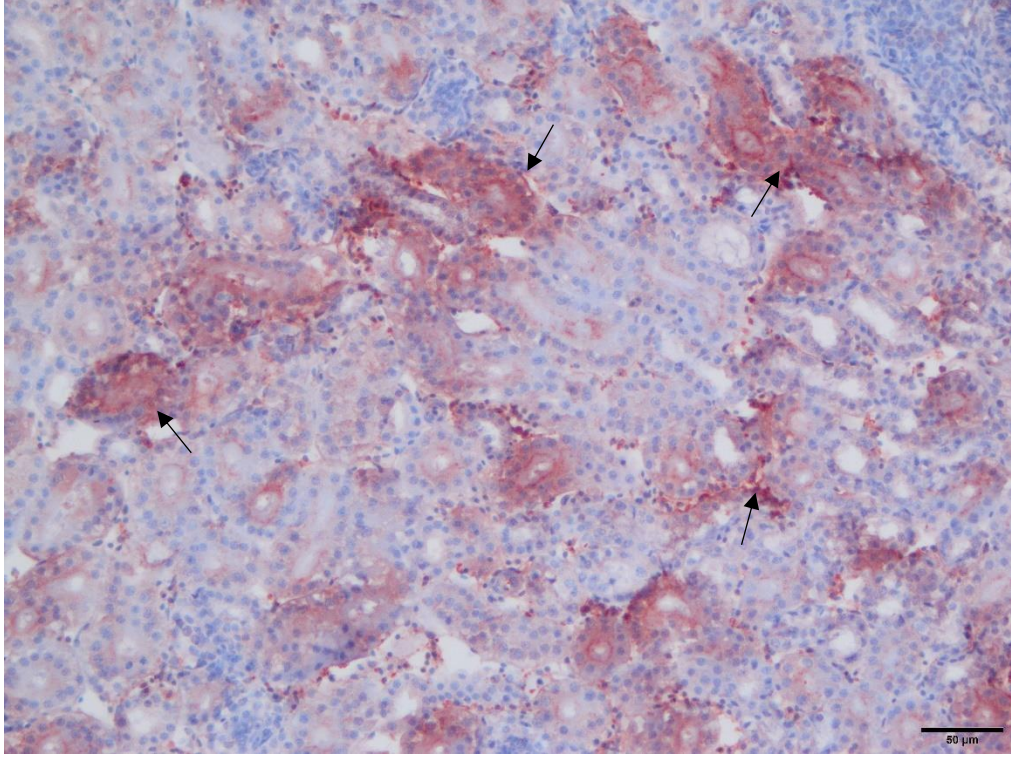
Resim 12. IBD virus immunopozitifliğin (+5) şiddetinde, yaygın bir halde çok sayıda Lenfositlerdeki görünümü, Dalak. İS 20. gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.



Resim 13. IBD virus antijeninin medullar bölgede (+5) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonları (Oklar), Timus. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.



Resim 14. IBD virus antijeninin lenfoid hücrelerde (+5) şiddetindeki immunopozitif reaksiyonları (Oklar) , Timus. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.



Resim 15. IBD virus antijeninin öbekler halinde tubulus epitellerinde tutunum gösterdiği immunopozitif reaksiyonlar (Oklar) , Böbrek. İS 20. Gün. Streptavidin-Biotin (LSAB) kit.

5. TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde son yıllarda ekonomik getirisi yönünden ciddi boyutlara varan kanatlı yetiştiriciliği beraberinde daha fazla hastalıkla karşılaşma potansiyelini de beraberinde getirmiştir. Kanatlı sektörü giderek artan üretimi ile sürüyü tehdit eden enfeksiyon hastalıklarına karşı daha dikkatli olunması ve koruyucu hekimliğin daha fazla öne çıkmasını gerektirmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020).

Gumboro ilk kez 1962 yılında Amerika'nın "Deleware" eyaletinin Gumboro bölgesinde gözlemlendiği için hastalığa bu isim verilmiştir. Hastalık ilk zamanlarında enfeksiyona yenik düşen kanatlılarda ileri derecede böbrek lezyonları tespit edilmesi nedeni ile "avian nephrosis" olarak isimlendirilmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020). Türkiye'de ise enfeksiyonun varlığına ilişkin ilk rapor Kandil (1978) tarafından bildirilmiştir.

Enfektif hayvanlarda 2-3 günlük inkubasyonu takiben halsizlik, ishal, tremor, inkoordinasyon, dehidrasyon gibi klinik belirtiler mevcuttur (Yeşilbağ, 2021). Virülansı orta dereceli (intermediate) canlı aşı suşu ile 18. Günlük civcivlerde yapılan denemelerde, bazı hayvanlarda ishal ve düşkünlük gibi bulgular tanımlanmıştır (Coletti ve diğerleri, 2001). Sunulan çalışmada virülansı çok yüksek immunkompleks aşılamanın yapıldığı hayvanlarda herhangi bir klinik bulgunun görülmemesi; immunkompleks aşının kuluçkadan yeni çıkan hayvanlara uygulanabilmesi ve replikasyon hızının ve immunizasyonun zamana yayılması hafif de olsa bildirilen klinik bulguların şekillenmesinin önüne geçebileceğini düşündürmektedir.

Enfektif virusun inokulasyonundan yaklaşık 3 haftalıktan sonra ödem ve hiperemi nedeniyle Bursa fabricius boyut ve ağırlık olarak artmaya başlar. 4. haftaya gelindiğinde, genellikle Bursa fabricius normal ağırlığının iki katına çıkar ve daha sonra boyut gerilemeye başlar. 5. haftada Bursa Fabricius normal ağırlığına geri döner, ancak atrofiye uğramaya devam eder ve 8.haftadan itibaren esas ağırlığının üçte birine hatta daha da düşük bir boyuta ulaşabilmektedir (Cheville, 1967). Coletti ve diğerleri (2001), kullandıkları virülansı çok yüksek canlı aşılamalarda, nekropsi muayenesinde civcivlerin Bursa fabricius'larında ödem ve hemorajileri kaydetmişlerdir. Singh ve diğerleri (2015), Gumboro hastalığından ölen piliçlerin Bursa fabricius'larında ağırlık ve boyut artışı yanında hemorajik lezyonlar bildirmişlerdir. Gerek doğal ve gerekse deneysel enfeksiyonlarda piliçlerde Bursa fabricius ve pektoral kaslarda hemorajilere rastlanılsa da (Eterradossi ve Saif, 2020; Juuma ve diğerleri, 2019); sunulan çalışmada immunkompleks aşıya maruz kalan olgularda herhangi bir makroskopik lezyona rastlanmamıştır. Bu durumun aşının virülansı çok yüksek olmasına karşın immunkompleks olması ve kuluçkadan çıkan civcivlere uygulanması, virusun Bursa fabricius' a ulaştıktan sonra

hızlı bir replikasyon hızında ve olasılıkla da yangısal mediatör, kemokin ve sitokin salınımlarını optimal sınırlarda uyarmasına bağlayabiliriz. Diğer yandan histopatolojik bulgularda lenfoid doku hasarının bazı hayvanlar dışında hafif/orta şiddette kalması, immunohistokimyasal olarak da virus replikasyonun genelde hafif/orta şiddette yayılım göstermesi de makroskobik lezyonların şekillenmesinin engellendiğini göstermektedir.

Doğal ya da deneysel enfeksiyonlarda Gumboraya ilişkin histopatolojik değişiklikler, makroskobik bulgularla paralel olarak, en şiddetli Bursa fabricius'da meydana gelir. Enfeksiyondan veya inokulasyondan 24 saat sonra mikroskobik bulgular gelişebilmektedir. Bursal foliküllerin medullar bölgesinde lenfositlerin dejenerasyonu ve nekrozu en tipik bulgulardandır. Lenfositlerin yerini kısa sürede heterofiller, piknotik kalıntılar ve hiperplastik retikuloendotelial hücreler almaktadır. Hemorajiler sıkça görülmektedir ancak yine de tutarlı bir lezyon olarak kabul edilmemektedir. Enfeksiyonun başlangıç aşamalarında birkaç lenfoid follikül etkilenirken yaklaşık 3. ve 4. günde tüm foliküller etkilenmektedir. Bu sırada görülen bursal ağırlık artışına, şiddetli ödem, hiperemi ve belirgin heterofil artışı neden olmaktadır. Yangısal reaksiyon azaldıkça, foliküllerin medullar alanlarında kistik kavitasyonlar gelişmektedir; bu alanda heterofillerin ve plazma hücrelerinin nekrozu ve fagositozu meydana gelir ve aynı zamanda interfolliküler alanda bağ doku proliferasyonu gerçekleşir (Cheville, 1967; Hemboldt ve Garner, 1964; Mandelli ve diğerleri, 1967; Peters, 1967). Sunulan bu çalışmadaki histopatolojik bulgular, IBD hastalığında doğal enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen histopatolojik bulgular ile büyük oranda paralellik göstermiştir. Özellikle inokulasyon sonrası 1. günde Bursa fabricius'ta viral antijenlerin görülmesi; aşı suşunun da doğal suşlardaki gibi hızla virusun hedef organ olan Bursa fabricius'a ulaştığı ve replike olmaya başladığını göstermiştir.

Bharathi ve diğerleri (2021), 3 yıl içerisinde klinik olarak IBD ile uyumlu ve virolojik olarak IBD tanısı koydukları 119 adet pilicin bursal lezyonlarını histopatolojik olarak 1 ila 5 arasında skorladıklarını bir çalışmada; Bursa fabricius'ta lenfoid boşalma, lenfosit nekrozu, folliküler atrofi, foliküllerde kistik oluşumlar ve interfolliküler bağ doku artışını bildirmişlerdir. Olguların genel skor ortalamasının 2-4 arasında olduğunu ve özellikle skor 3' e sahip tavuklarda ve 21-30 günlük yaşta olan tavuklarda ölüm oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Singh ve diğerleri (2015), doğal enfekte bir sürüden elde ettikleri hastalıklı 33 civcivin nekropsisini gerçekleştirdikleri, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak IBD tanısı koydukları çalışmada; lenfoid foliküllerde boşalma, bursal epitelin kaybı, follikül atrofisi, kistik foliküller oluşumlar ile interfolliküler fibrozisi tanımlamışlardır. Rautenschlein ve diğerleri (2005), 4 farklı ticari aşı (ilk üçü orta virulanslı, sonuncusu orta-yüksek virulanslı aşı)

kullanarak gerçekleştirdikleri deneysel çalışmada; orta virulanslı aşı uygulanan piliçlerde genel lezyon skoru ortalama 1 dolayında olurken, orta-yüksek virulanslı aşı ile enfekte edilmiş piliçlerde bu skorun 3'ten büyük olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Rautenschlein ve diğerleri (2005), bu çalışmada orta ve orta-yüksek (intermediate ve intermediate plus) canlı aşilar sonucunda Bursa fabricius'ta yüksek oranda (%76-%100) folliküllerde lenfoid boşalma, lenfosit nekrozları, folliküler atrofi ve interfolliküler alanlarda fibrozisi tanımlamışlardır. Orta virulanslı aşilar yaklaşık 35. günlerde antikor oluşumunu indüklerken, orta-yüksek virulanslı aşiların yaklaşık 18. günlerde antikor indüklemesi yaptığını bildirmişlerdir. Sunulan bu tez çalışmasında % 14,63 lenfoid boşalma ve % 12,20 lenfosit nekrozu ile karakterize histopatolojik veriler; aşı virusunun yüksek virülansa sahip immunkompleks aşı, diğer orta/yüksek virulanslı konvensiyonel aşilara göre doku hasarının önemli ölçüde azaltması; IBD'ye karşı çok daha etkin bir immunizasyona katkı sağlayacağı sonucunu doğurmaktadır. Diğer yandan, immunkompleks aşının IBD aşılama sürecinde şiddetli lenfosit kayıplarını önemli ölçüde geriletmesi, aşılama sürecinde başta infeksiyöz bronşitis olmak üzere diğer patojenlere karşı açık kapı aralığının önemli ölçüde kapatılacağı anlamını da taşımaktadır. Coletti ve diğerleri (2001), orta-yüksek virulanslı bir aşiyı in-ovo teknikle civcivlere uyguladıkları ve bursa fabricius'ta oluşan histopatolojik lezyonları 1 ila 4 arasında skorladıkları deneysel çalışmada; bursal folliküllerdeki lenfosit yıkımının genel skorunun 2 ila 3 arasında orta şiddette sınırlı kaldığını gözlemişlerdir. Bu histopatolojik veri, aynı virulanslı aşının genel rutin uygulama yaşı olan 18. günlük civcivlerdekine göre bursal doku hasarının kıyaslandığında, immunkompleks aşı ile sunulan çalışmadaki skorlarla genel olarak örtüştüğünü söyleyebiliriz. Ancak, akılcı bir biyomühendislik ile geliştirilmiş olan immunkompleks aşiların civcivlerde sirküle olan maternal antikorları nötralize etmeden lenfoid dokulardaki immunizasyon sürecine dahil olması ve hafif/orta şiddette doku hasarı ile immunizasyonu gerçekleştirmesi, diğer konvensiyonel aşilara üstünlüğünü göstermektedir.

Tanimura ve diğerleri (1995), yaptıkları deneysel çalışmada kulanmış oldukları yüksek patojenik suş (J1) ve orta dereceli patjenik suş (Ehime/91, DV86) ile enfekte ettikleri 21 günlük yaştaki civcivlerde; inokulasyon sonrası 12. saatte Bursa fabricius, sekal tonsiller, timus, dalak ve kemik iliğinde herhangi bir antijenik tutuluma rastlamamışlardır. İnokulasyon sonrası 1. günde sadece Bursa fabricius' ta hafif şiddetli antijenik tutuluma, 2.günde Bursa Fabricius' ta şiddetli fakat diğer dokularda kemik iliği hariç hafif şiddetteantijenik tutuluma, 3. günde her iki kullanılan suş içinde Bursa fabricius'ta şiddetli bir antijenik tutulum gözlenirken, diğer dokularda orta dereceli patojeniteli suşa karşı şiddetli bir antijenik tutulum meydana gelmiştir. Kemik iliği 3.günde yüksek patojenik suşa karşı bir antijenik cevap oluşturamamıştır. 4. 5. 7.

ve 10.günlerde virusun ana hedef organı olan Bursa fabricius'ta gerek yüksek gerekse de orta patojeniteli suşlara karşı şiddetli bir antijenik tutulum izlenmiştir. Buna karşılık diğer dokularda günler ilerledikçe özellikle orta patojeniteli suşla enfeksiyonda, antijenik tutulumlar çok zayıf kalmıştır. Yüksek patojeniteli suşa karşı ise antijenik tutulum görülmemiştir. Zahid ve diğerleri (2018) yaptıkları çalışmada, enfeksiyonun 3. gününde civcivlerin timus dokusunun medullar bölgesinde lenfoid hücrelerde viral antijen varlığını bildirmişler, 5 günde ise Bursa fabricius' un korteks ve medullar bölgelerinde viral antijen tutulumlarını izlemişlerdir. Viral antijen şiddetinin de enfeksiyonun 3. ila 14.günler arasında maksimum seviyeye ulaştığını kaydetmişlerdir. Atenüe yüksek virulanslı immunkompleks (gumbohatch (Hipra)) aşının kuluçka çıkışında (0. gün) civcivlere verilmesi ile gerçekleştirildiği bu tez çalışmasında; virusun hedef organı olan Bursa fabricius'ta inokulasyonun 12 ila 24. saatler arasında hafif ve orta şiddetli antijen pozitif reaksiyonların gözlenmesi; doğal suşlarla gerçekleştirilen patogeneze çalışmasındaki gibi, immunkompleks aşı suşunun da doğal patojenik suşlar gibi hemen hemen aynı zaman dilimlerinde Bursa Fabricius'a tutunum gösterdiği ve lenfoid hücrelerde replike olmaya başladığının kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Diğer yandan ilk 24 saat içerisinde Bursa fabricius dışında, dalak kemik iliği, timus ve böbrek gibi diğer dokularda çok zayıf viral antijen pozitif reaksiyonların alınması da doğal enfeksiyon süreciyle örtüşmüştür. Sunulan çalışmada broylerlerin kesim yaşı olan 40 günlük süreye kadar olan süreçte, Bursa Fabricius'ta viral antijen şiddetinin 3 ile 20. günler arasında artarak en yüksek seviyeye ulaştığını, 30. günden itibaren azalarak 40. güne kadar ise en düşük seviyeye indiğini söyleyebiliriz. IBD viral antijen tutulumunun en yüksek seviyede olduğu 20-30. günler arasında, Bursa fabricius'ta lenfoid doku hasarının ve follikül atrofisinin en şiddetli döneme karşılık geldiği dikkati çekmiştir. Diğer yandan, bu çalışmanın 30-40. günleri arasında antijen pozitifliğin düşük seviyede olduğu dönemde de folliküllerdeki hasarın hafiflediği ve hatta birçok follikülün rejenera olarak yerini tamamladığı görülmüştür.

T hücreleri, IBDV ile enfeksiyona dirençlidir. T hücreli yanıt, enfeksiyondan 5 gün sonra hastalığın erken fazında Bursa fabricius'taki IBD virus suşunun patojenitesine bağlı olarak, viral replikasyonu sınırlandırabilir ve hastalığın klinik-patolojik etkilerini kontrol altına alabilmekte; ancak muhtemelen çok güçlü sitokin salınımının indüklenmesi ve doku iyileşmesinin gecikmesiyle birlikte patolojik etki de güçlü ortaya çıkabilmektedir (Kim ve diğerleri, 2000; Coletti ve diğerleri, 2001). Bursa fabricius ile mukayese edildiğinde, dalak dokusunda viral antijen pozitiflik oldukça düşük seviyelerde kalmasına karşın; timusta ise bazı olgularda antijen pozitiflik Bursa Fabricius tutulumlarındaki kadar şiddetli düzeyde olduğu

görülmüştür. Dalak dokusunda immunopozitifliklerin düşük şiddette kalması; virusun asıl replike olduğu hücrenin olgunlaşmakta olan B lenfositlerin Bursa fabricius'a kıyasla çok düşük sayılarda kalması ile açıklanabilir. T hücre rezervi doku olan Timusta ise IBD antijen pozitifliğin güçlü olmasını ise, diğer araştırmaların bulguları ile örtüştüğü gibi (Coletti ve diğerleri, 2001; Hussan ve diğerleri, 2013), antijen pozitifliğin lenfoid hücreler yanında asıl timus epitel hücrelerinde de lokalize olmasıyla açıklık getirilmiştir.

Hastalık ilk tanımlandığı yıllarda, enfeksiyona yenik düşen kanatlılarda ileri derecede böbrek lezyonları tespit edilmesi nedeni ile "avian nephrosis" olarak isimlendirilmiştir (Eterradossi ve Saif, 2020). Sunulan bu çalışmada böbrek dokusunda herhangi bir histopatolojik bulgu tanımlanmamış olup, inokulasyonun 10. gününe kadar olan olgularda hafiften şiddetliye kadar belirlen immunopozitiflik, 20 ile 40. günler arasında belirgin şekilde düşmüş ve birçok hayvanda da gözden kaybolmuştur. IBDV aşısı suşunun böbrek tubulus epitelinde belirgin şekilde replikasyon göstermesine karşın, histolojik bulgu şekillendirmemesini; doğal enfeksiyonlardaki gibi baskın virus replikasyonunun oluşmaması ve buna bağlı olarak da doku hasarını oluşturacak yangısal mediatör, kemokin ve sitokin salınımının yetersizliğine yorumlanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

IBD virusu, etlik piliçlerde ve civcivlerde Bursa fabricius'undaki olgunlaşmakta olan B-lenfositlerde replike olur ve şiddetli doku hasarına neden olarak klinik-patolojik bulgulara yol açar. Bunun yanında virus kemik iliği, dalak ve timusta da replike olarak histolojik değişikliklere neden olur (Killian ve diğerleri, 2017; Eterradossi ve Saif, 2020). Gumboro Hastalığı ekonomik önemini iki yönde gösterir: Birincisi, yüksek patojeniteli suşlar 3 haftalık civcivlerde ve daha büyüklerde %60'a varan ölümlere neden olması; ikincisi de erken yaşta enfekte olan civcivlerin herhangi bir klinik bulgu göstermeksizin immunsüpresyona neden olması ve dolayısıyla da sekonder enfeksiyonlara yatkınlığı arttırmasıdır (Eterradossi ve Saif, 2020). Klasik atenüe IBD virus aşısı da doğal IBD viruslar gibi, bu organlarda replike olarak özellikle Bursa Fabricius'ta ciddi doku hasarına yol açarak immunsüpresyona neden olur. Bu immunsüpresyon başta infeksiyöz bronşitis (IB) ve diğer kanatlı patojenlerine karşı sürüyü duyarlı hale getirebilmektedir (Eterradossi ve Saif, 2020). Aşının bu olumsuz yönünü bertaraf etmek için bilim insanları, IBD virusunun VP2 antijen gen bölgesini, Marek aşı virusunun (bir herpes virus) genine entegre edilmesiyle elde edilen vektör aşılar ile bu tez çalışmasında kullanılan immunkompleks aşıları geliştirmişlerdir (Eterradossi ve Saif, 2020; Zahid ve diğerleri, 2018).

Gerek saha, önceki saha deneyimlerimiz ve gerekse de literatür bilgiler çerçevesinde edindiğimiz veriler; sunulan tez çalışmasında yer alan immunkompleks IBDV aşısı ilk kez deneysel bir çalışmaya hipotez oluşturmuştur. Bu tez çalışmasında civcivlerdeki histopatolojik bulgular Bursa Fabriciusta'ki lenfoid doku nekrozunun inokulasyonun 20 ile 30 günler arasında en yüksek seviyeye çıktığı, 30 ile 40. günler arasında da nekrotik folliküllerin rejenere olduğu dönem olarak belirlenmiştir. Gerek doğal suşlar ile enfeksiyonlarda gerekse klasik aşılamalarda lenfoid follikül hasar seviyesinin çok daha şiddetli olduğu ve rejenerasyon evresinin broiler kesim dönemini aştığını gözönünde bulundurulduğunda; sunulan çalışmadaki immunkompleks aşının klasik aşılara göre önemli bir üstünlüğünü ortaya koymuştur. Çalışmanın immunohistokimyasal bulguları, aşı uygulamasını takiben atenüe virusun ilk günden itibaren hedef organ olan Bursa Fabricius'a ulaşması ve 20. güne kadar süreçte dengeli bir replikasyon sağlaması ve sonrasında dolayısıyla da lenfoid doku hasarını azaltması ve rejenerasyona olanak sağladığını düşünmekteyiz. Keza, klasik IBD aşılama zamanı etlik piliçlerde 18-20 günler arasındadır ve virus replikasyon hızı da 2-3 gün içerisinde Bursa fabricius'ta en yüksek seviyeye çıktığı ve çok ciddi lenfoid doku hasarına neden olduğu düşünüldüğünde, immunkompleks aşının kuluçkadan yeni çıkan (0. gün) civcivlere uygulama olanağının olması

ve maternal antikorları bloke etmemesi de klasik aşılarla diğerk önemli bir üstünlüğü olarak değerlendirilmiştir. Ancak, immunkompleks aşı virusunun klasik aşılar gibi başta kemik iliğı, dalak ve timusta tutunum göstermesi, tarafımızca önemli bir dezavantaj olarak değerlendirilmiştir. Sunulan tez çalışmasında IBDV'na yönelik ticari bir antikorun bulunmasına karşın, tavşanlardan poliklonal antikor üretmeye yönelik uygulamalar, yüksek lisans adayının patoloji yanında immunoloji alt yapısının gelişimine katkıda bulunmuştur. Ayrıca bu immunoloji uygulamaları patoloji alanının kurumsal hafızasına önemli katkılar sağladığı kanısındayız.

Özetle, bu tez çalışmasından çıkan en önemli sonuç aşıların hayvan sağlığını korumada çok önemli katkılar sağlaması yanında, olumsuz yönlerinin de derin araştırmalara konu edilmesi gerektiğı ortaya çıkmaktadır. Sonraki çalışmalarda IBD'nin vektör aşılarının da çalışmalara konu edilmesi ve diğerk aşılar ile mukayesinin yapılmasını önermekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abdel-Alim, G., and Y. Saif. 2001a. Immunogenicity and antigenicity of very virulent strains of infectious bursal disease viruses. *Avian Diseases*. 44(1):92–101.
- Abdel-Alim, G.A., and Y.M. Saif. 2001b. Detection and persistence of infectious bursal disease virus in specific- pathogen-free and commercial broiler chickens. *Avian Diseases*. 45:646–654.
- Abdel-Alim, G., and Y. Saif. 2002. Pathogenicity of embryo- adapted serotype 2 OH strain of infectious bursal disease virus in chickens and turkeys. *Avian Diseases*. 46:1001–1006.
- Akan, M. (2002). *İnfeksiyöz bursal hastalık*. In: İzgür M., Akan M. (Eds) *Kanatlı Hayvan Hastalıkları*. Medisan Yayınevi, I. Baskı, Ankara, Türkiye, pp 169-179.
- Allan, W., Faragher, J., and Cullen, G. 1972. Immunosuppression by the infectious bursal agent in chickens immunised against Newcastle disease. *Veterinary Record*, 90:511–512.
- Ashraf, S., G. Abdel-Alim, and Y.M. Saif. 2006. Detection of antibodies against serotypes 1 and 2 infectious bursal disease virus by commercial ELISA kits. *Avian Diseases*. 50:104–109.
- Azad, A.A., M.N. Jagadish, M.A. Brown, and P.J. Hudson. 1987. Deletion mapping and expression in *Escherichia coli* of the large genomic segment of a birnavirus. *Virology*. 161:145–152.
- Baxendale, W., D. Lutticken, R. Hein, and I. McPherson. 1980. The results of field trials conducted with an inactivated vaccine against the egg drop syndrome 76 (EDS 76). *Avian Pathology*. 9:77–91.
- Bayliss, C.D., R.W. Peters, J.K. Cook, R.L. Reece, K. Howes, M.M. Binns, and M.E. Boursnell. 1991. A recombinant fowlpox virus that expresses the VP2 antigen of infectious bursal disease virus induces protection against mortality caused by the virus. *Archives Virology*. 120:193–205.
- Becht, H., H. Muller, and H.K. Muller. 1988. Comparative studies on structural and antigenic properties of two serotypes of infectious bursal disease virus. *Journal of General Virology*. 69(3):631– 640.
- Benton, W.J., M.S. Cover, J.K. Rosenberger, and R.S. Lake. 1967. Physicochemical properties of the infectious bursal agent (IBA). *Avian Diseases*. 11:438–445.

- Bharathi, R., Karthik, K., Pazhanivel, N., Hemalatha, S., Shoba, K., Roy, Parimal., Raj, G., (2021). Histopathological study of infectious bursal disease and bursal lesion scoring for severity assesment in poultry flocks of Tamil Nadu, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(1): 1142-1145.
- Boudaoud, A., Mamache, B., Tombari, W., Ghram, A., (2016). Virus Mutations and Their Impact on Vaccination Against Infectious Bursal Disease (Gumboro Disease), *Revue Scientifique Technique, Office International des Epizooties.*, 35(3).
- Box, P. 1989. High maternal antibodies help chicks beat virulent viruses. *World Poultry*. 53:17–19.
- Chettle, N., J.C. Stuart, and P.J. Wyeth. 1989. Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia. *Veterinary Record*. 125:271–272.
- Chui, C.H., and J. Thorsen. 1984. Experimental infection of turkeys with infectious bursal disease virus and the effect on the immunocompetence of infected turkeys. *Avian Diseases*. 28:197–207.
- Coletti, M., Del Rossi, E., Franciosini, P., Passamonti, F., Tacconi, G., Marini, C., (2001). Efficacy and Safety of an Infectious Bursal Disease Virus Intermediate Vaccine In Ovo, *Avian Diseases* 45: 1036-1043.
- Craft, D.W., J. Brown, and P.D. Lukert. 1990. Effects of standard and variant strains of infectious bursal disease virus on infections of chickens. *American Journal of Veterinary Research*. 51:1192–1197.
- Darteil, R., M. Bublot, E. Laplace, J.F. Bouquet, J.C. Audonnet, and M. Riviere. 1995. Herpesvirus of turkey recombinant viruses expressing infectious bursal disease virus (IBDV) VP2 immunogen induce protection against an IBDV virulent challenge in chickens. *Virology*. 211:481–490.
- De Herdt, P., E. Jagt, G. Paul, S. Van Colen, R. Renard, C. Destrooper, and G. van den Bosch. 2005. Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against infectious bursal disease virus (IBDV) and the estimation of the optimal age for IBDV vaccination in broilers. *Avian Pathology*. 34:501–504.
- Delgui, L., D. Gonzalez, and J.F. Rodriguez. 2009. Infectious bursal disease virus persistently infects bursal B-lymphoid DT40 cells. *Journal of General Virology*. 90:1148–1152.

- Delgui, L., A. Ona, S. Gutierrez, D. Luque, A. Navarro, J.R. Caston, and J.F. Rodriguez. 2009. The capsid protein of infectious bursal disease virus contains a functional alpha 4 beta 1 integrin ligand motif. *Virology*. 386:360–372.
- Dohms, J.E., K.P. Lee, and J.K. Rosenberger. 1981. Plasma cell changes in the gland of Harder following infectious bursal disease virus infection of the chicken. *Avian Diseases*. 25:683–695.
- Etteradossi, N., J.P. Picault, P. Drouin, M. Guittet, R. L'Hospitalier, and G. Bennejean. 1992. Pathogenicity and preliminary antigenic characterization of six infectious bursal disease virus strains isolated in France from acute outbreaks. *Zentralbl Veterinarmed, B*. 39:683– 691.
- Etteradossi, N., Saif, Y., (2020). *Infectious Bursal Disease*. David E. Swayne, (7.bs 257-283). USA: WILEY Blackwell.
- Fadly, A.M., R.W. Winterfield, and H.J. Olander. 1976. Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity of inclusion body hepatitis and infectious bursal disease viruses. *Avian Diseases*. 20:467–477.
- Francois, A., C. Chevalier, B. Delmas, N. Etteradossi, D. Toquin, G. Rivallan, and P. Langlois. 2004. Avian adenovirus CELO recombinants expressing VP2 of infectious bursal disease virus induce protection against bursal disease in chickens. *Vaccine*. 22:2351–2360.
- Gagic, M., C.A. St Hill, and J.M. Sharma. 1999. In ovo vaccination of specific-pathogen-free chickens with vaccines containing multiple agents. *Avian Diseases*. 43:293–301.
- Giambrone, J.J., O.J. Fletcher, P.D. Lukert, R.K. Page, and C.E. Eidson. 1978. Experimental infection of turkeys with infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 22:451–458.
- Gough, R.E., S.E. Drury, B. Welchman Dde, J.R. Chitty, and G.E. Summerhays. 2002. Isolation of birnavirus and reovirus-like agents from penguins in the United Kingdom. *Veterinary Record*. 151:422–424.
- Grimes, T.M., and D.J. King. 1977. Effect of maternal antibody on experimental infections of chickens with a type-8 avian adenovirus. *Avian Diseases*. 21:97–12.
- Gürel, A., Kuscu, B., Arun, S., Yeşildere, T., (2003). Studies on diagnosis of spontaneous Gumboro diseases (IBD) by histopathological and immunoperoxidase methods, *Archiv für Geflügelkunde*, 67(3): 131-137.

- Haddad, E.E., C.E. Whitfill, A.P. Avakian, C.A. Ricks, P.D. Andrews, J.A. Thoma, and P.S. Wakenell. 1997. Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Diseases*. 41:882–889.
- Haghighi, Z. M. Tavasoly, A. Shoshtary, A. Bahmaninejad, M. A. and Marjanmehr, S. H., (2009). An experimental study on early pathogenesis of a very virulent isolate of infectious bursal disease virus, employing immunohistochemistry, *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, Vol. 10, No. 2.
- Hassan, M.K., and Y.M. Saif. 1996. Influence of the host system on the pathogenicity, immunogenicity, and antigenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 40:553–561.
- Hassan, M.K., Y.M. Saif, and S. Shawky. 1996. Comparison between antigen-capture ELISA and conventional methods used for titration of infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 40:562–566.
- Hassan, M.K., M. Afify, and M.M. Aly. 2002. Susceptibility of vaccinated and unvaccinated Egyptian chickens to very virulent infectious bursal disease virus. *Avian Pathology*. 31:149–156.
- Heine, H.G., M. Haritou, P. Failla, K. Fahey, and A. Azad. 1991. Sequence analysis and expression of the host-protective immunogen VP2 of a variant strain of infectious bursal disease virus which can circumvent vaccination with standard type I strains. *Journal of General Virology*. 72(8):1835–1843.
- Hirai, K., and B.W. Calnek. 1979. In vitro replication of infectious bursal disease virus in established lymphoid cell lines and chicken B lymphocytes. *Infection and Immunity*. 25:964–970.
- Hirai, K., K. Kunihiro, and S. Shimakura. 1979. Characterization of immunosuppression in chickens by infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 23:950–965.
- Hitchner, S.B. 1970. Infectivity of infectious bursal disease virus for embryonating eggs. *Poult Sci*. 49:511–516. Hitchner, S.B. 1976. Immunization of adult hens against infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 20.
- Huang, Z., S. Elankumaran, A.S. Yunus, and S.K. Samal. 2004. A recombinant Newcastle disease virus (NDV) expressing VP2 protein of infectious bursal disease virus (IBDV) protects against NDV and IBDV. *Journal of Virology*. 78:10054–10063.

- Hussan, M., Khan, M., Jahan, M., (2013). Tissue Distribution of B-Lymphocyte Subsets (IGA, IGG And IGM) in the Mucosa and Lymphoid Tissues of Broilers Immunized With Gumboro Vaccine, *Bangl. Journal of Veterinary Medicine*. 11(1): 13-19.
- Hussein, E., Bejo, M., Liew, P., Adamu, L., Omar, A., Arshad, S., Mohammed, M., Aini, I., (2019). Infectious bursal disease virus tissue tropism and pathogenesis of the infection in chickens by application of in situ PCR, immunoperoxase and HE staining, *Elsevier, Microbial Pathogenesis*, 129: 195-205.
- Ismail, N.M., Y.M. Saif, and P.D. Moorhead. 1988. Lack of pathogenicity of five serotype 2 infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Diseases*. 32:757–759.
- Ismail, N.M., and Y.M. Saif. 1990. Differentiation between antibodies to serotypes 1 and 2 infectious bursal disease viruses in chicken sera. *Avian Diseases*. 34:1002–1004.
- Ismail, N.M., Y.M. Saif, W.L. Wigle, G.B. Havenstein, and C. Jackson. 1990. Infectious bursal disease virus variant from commercial Leghorn pullets. *Avian Diseases*. 34:141–145.
- Ismail, N.M., and Y.M. Saif. 1991. Immunogenicity of infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Dis*. 35:460–469. Ivanyi, J. 1975. Immunodeficiency in the chicken. II. Production of monomeric IgM following testosterone treatment or infection with Gumboro disease. *Immunology*. 28:1015–1021.
- Ivanyi, J., and R. Morris. 1976. Immunodeficiency in the chicken. IV. An immunological study of infectious bursal disease. *Clinical and Experimental Immunology*. 23:154–165.
- Jackwood, D.J., Y.M. Saif, and J.H. Hughes. 1982. Characteristics and serologic studies of two serotypes of infectious bursal disease virus in turkeys. *Avian Diseases*. 871–882.
- Jackwood, D.J., Y.M. Saif, P. Moorhead, and G. Bishop. 1984. Failure of two serotype II infectious bursal disease viruses to affect the humoral immune response of turkeys. *Avian Diseases*. 100–116.
- Jackwood, D.J., Y.M. Saif, and P. Moorhead. 1985. Immunogenicity and antigenicity of infectious bursal disease virus serotypes I and II in chickens. *Avian Diseases*. 1184–1194.
- Jackwood, D.H., Y. Saif, and J. Hughes. 1987. Replication of infectious bursal disease virus in continuous cell lines. *Avian Diseases*. 370–375.
- Jackwood, D.H., and Y.M. Saif. 1987. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. *Avian Diseases*. 766–770.

- Jackwood, D.J., S.E. Sommer-Wagner, B.M. Crossley, S.T. Stoute, P.R. Woolcock, and B.R. Charlton. 2011. Identification and pathogenicity of a natural reassortant between a very virulent serotype 1 infectious bursal disease virus (IBDV) and a serotype 2 IBDV. *Virology*. 420:98–105.
- Jeon, W-J., E-K. Lee S-J. Joh J.-h. Kwon, C-B. Yang, Y-S. Yoon, and K.-S. Choi. 2008. Very virulent infectious bursal disease virus isolated from wild birds in Korea: epidemiological implications. *Virus Research*. 137:153–156.
- Johnson, D., P. Lukert, and R. Page. 1980. Field studies with convalescent serum and infectious bursal disease vaccine to control turkey coryza. *Avian Diseases*. 386–392.
- Jumaa, R., Allawe, A., Jabbar, R., (2019). Isolation of Infectious Bursal Disease Virus and Immunohistochemistry of CD4+ and CD8+ for Infected Iraqi Chickens, *Biochemical and Cellular Archives*. Vol. 19(2): 3375-3384.
- Kandil M 1978. Hastalıklı piliçlerin Bursa Fabriciuslarında Enfeksiyöz Bursitis Virusunun İzolasyonu ve Bazı Özellikleri Üzerine Araştırmalar. *Doçentlik Tezi, Fırat Üniv. Vet. Fak.*
- Karadaş, E., ve N. Metin., Enfeksiyöz Bursal Hastalık (IBD-Gumboro Hastalığı) Virusu ile Enfekte Edilmiş Pekin Ördeği Embriyosunda Makroskobik ve Mikroskobik Değişimler” , *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 18, 339-345 (1994).
- Kasanga, C.J., T. Yamaguchi, P.N. Wambura, H.M. Munang’andu, K. Ohya, and H. Fukushi. 2008. Detection of infectious bursal disease virus (IBDV) genome in free-living pigeon and guinea fowl in Africa suggests involvement of wild birds in the epidemiology of IBDV. *Virus Genes*. 36:521–529.
- Khatri, M., and J.M. Sharma. 2009. Susceptibility of chicken mesenchymal stem cells to infectious bursal disease virus. *Journal of Virology Methods*. 160:197–199.
- Killian, M., Boviez, J., Gambarotta, M., Lombardo, D., (2017). Induction of Apoptosis in the Bursa of Fabricius by Vaccination Against Gumboro Disease, *Avian Pathology*, Vol.46(5): 526-534.
- Kreider, D., J. Skeeles, M. Parsley, L. Newberry, and J. Story. 1991. Variability in a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay system. II. Laboratory variability. *Avian Diseases*. 288–293.
- Käufer, I., and E. Weiss. 1980. Significance of bursa of Fabricius as target organ in infectious bursal disease of chickens. *Infection and Immunity*. 27:364–367.

- Kösters, J., H. Becht, and R. Rudolph. 1972. Properties of the infectious bursal agent of chicken (IBA). *Medical Microbiology and Immunology*. 157:291–298.
- Lam, K. 1997. Morphological evidence of apoptosis in chickens infected with infectious bursal disease virus. *Journal of Comparative Pathology*. 116:367–377.
- Lawal, N., Hair-Bejo, M., Arshad, S., Omar, A., Ideris A., Adaptation and Molecular Characterization of Two Malaysian Very Virulent Infectious Bursal Disease Virus Isolates Adapted in BGM-70 Cell Line, *Advances in Virology*, 1-19.
- Le Gros, F., A. Dancer, C. Giacomini, L. Pizzoni, M. Bublot, M. Graziani, and F. Prandini. 2009. Field efficacy trial of a novel HVT-IBD vector vaccine for 1-day-old broilers. *Vaccine*. 27:592–596.
- Lee, L., and P. Lukert. 1986. Adaptation and antigenic variation of infectious bursal disease virus. *Journal of the Chinese Society Veterinary Science*. 12:297–304.
- Lucio, B., and S.B. Hitchner. 1979. Infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing- antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Diseases*. 466–478.
- Lukert P D and Saif Y M (1997) Infectious Bursal Disease. *Diseases of Poultry*, 10th Edition. Chapter 29, 721-738.
- Lukert, P., and R. Davis. 1974. Infectious bursal disease virus: growth and characterization in cell cultures. *Avian Diseases*. 243–250.
- Lukert, P., and D. Rifuliadi. 1982. Replication of virulent and attenuated infectious bursal disease virus in maternally immune day-old chickens. In: *Journal of the American Veterinary Medicine Association*. 284.
- Lukert, P., and L. Mazariegos. 1985. Virulence and immunosuppressive potential of intermediate vaccine strains of infectious bursal disease virus. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*. 187:306–312.
- Lukert, P. 1986. Serotyping recent isolates of infectious bursal disease virus. In: Proceedings of the 123rd Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association, Abstract. Mahgoub, H., (2012). An Overview of Infectious Bursal Disease, *Archives of Virology*. 157: 2047-2057.
- Malik, M.W., N. Ayub, and I.Z. Qureshi. 2006. Passive immunization using purified IgYs against infectious bursal disease of chickens in Pakistan. *Journal of Veterinary Science*. 7:43–46.

- Marquardt, W., R. Johnson, W. Odenwald, and B. Schlotthober. 1980. An indirect enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring antibodies in chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 375–385.
- McAllister, J., C. Steelman, L. Newberry, and J. Skeeles. 1995. Isolation of infectious bursal disease virus from the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). *Poultry Science*. 74:45–49.
- McFerran, J.B., M.S. McNulty, E.R. McKillop, T.J. Connor, R.M. McCracken, D.S. Collins, and G.M. Allan. 1980. Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkeys and ducks: demonstration of a second serotype. *Avian Pathology*. 9:395–404.
- McNulty, M., G. Allan, and J. McFerran. 1979. Isolation of infectious bursal disease virus from turkeys. *Avian Pathology*. 8:205–212.
- McNulty, M.S., and Y.M. Saif. 1988. Antigenic relationship of non-serotype 1 turkey infectious bursal disease viruses from the United States and United Kingdom. *Avian Diseases*. 32:374–375.
- Mekkes, D., and J.D. Wit. 2002. Report of the second international ring trial for Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) antibody detection in serum. Annual Report and Proceedings 2002 of COST Action. 839: *Immunosuppressive Viral Diseases*. 210–226.
- Meroz, M. 1966. An epidemiological survey of Gumboro disease. *Avian Diseases*, 23:235–237.
- Müller, H. 1986. Replication of infectious bursal disease virus in lymphoid cells. *Archives of Virology*. 87:191–203.
- Müller, H., H. Lange, and H. Becht. 1986. Formation, characterization and interfering capacity of a small plaque mutant and of incomplete virus particles of infectious bursal disease virus. *Virus Research, Elsevier*. 4:297–309.
- Müller, H., Islam, Md., Raue, R., (2003). Research on Infectious Bursal Disease-The past, the present and the future, *Elsevier Veterinary Microbiology*, 97: 153-165.
- Müller, H., E. Mundt, N. Eterradossi, and M.R. Islam. 2012. Current status of vaccines against infectious bursal disease. *Avian Pathology*. 41:133–139.
- Negash, T., Al-S. Garib, and E. Gruys. 2004. Comparison of in ovo and post-hatch vaccination with particular reference to infectious bursal disease. A review. *Veterinary Quarterly*, 26:76–87.
- Nieper, H., Teifke, J., Lohr, C., Müller, H., (1999). Infected and Apoptotic Cells in the IBDV Infected Bursa of Fabricius, Studied by Double-Labeling Techniques, *Avian Pathology*, 28:279-285.

- Nusbaum, K., P. Lukert, and O. Fletcher. 1988. Experimental infections of one-day-old poults with turkey isolates of infectious bursal disease virus. *Avian Pathology*. 17:51–62.
- Okoye, J.O.A., and U.E. Uche. 1986. Serological evidence of infectious bursal disease virus infection in wild rats. *Acta Veterinaria Brno*. 55:207–209.
- Page, R., O. Fletcher, P. Lukert, and R. Rimler. 1978. Rhinotracheitis in turkey poults. *Avian Diseases*. 529–534.
- Pagès-manté, A., D. Torrents, J. Maldonado, and N. Saubi. 2004. Dogs as potential carriers of infectious bursal disease virus. *Avian Pathology*. 33:205–209.
- Parkhurst, R.T. 1964. On-the-farm studies of Gumboro disease in broilers. *Avian Diseases*. 8:584–596.
- Pejkovski, C., F. Davelaar, and B. Kouwenhoven. 1979. Immunosuppressive effect of infectious bursal disease virus on vaccination against infectious bronchitis. *Avian Pathology*. 8:95–106.
- Perelman, B., and E. Heller. 1983. The effect of infectious bursal disease virus on the immune system of turkeys. *Avian Diseases*. 66–76.
- Qin, Y., Zheng, S., (2017). Infectious Bursal Disease Virus-Host Interactions: Multifunctional Viral Proteins That Perform Multiple and Differing Jobs, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 161.
- Rautenschlein, S., H.-Y. Yeh, M. Njenga, and J. Sharma. 2002. Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. *Archives of Virology*. 147:285–304.
- Rautenschlein, S., and C. Haase. 2005. Differences in the immunopathogenesis of infectious bursal disease virus (IBDV) following in ovo and post-hatch vaccination of chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 106:139–150.
- Rautenschlein, S., Kraemer, Ch., Vanmarcke, J., Montiel, E., (2005). Protective Efficacy of Intermediate and Intermediate Plus Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) Vaccines Against Very Virulent IBDV in Commercial Broilers, *Avian Diseases*, 49: 231-237.
- Rekha, K., Sivasubramanian, C., Chung, I., Thiruvengadam, M., (2014). Growth and Replication of Infectious Bursal Disease Virus in the DF-1 Cell Line and Chicken Embryo Fibroblasts, *Biomed Research International*, 1-6.

- Rinaldi, A., E. Lodetti, D. Cessi, E. Lodrini, G. Cervio, and L. Nardelli. 1972. Coltura del virus di Gumboro (IBA) su fibroblasti di embrioni di pollo. *Diseases of Poultry*, Nuova Vet.
- Rosenberger, J., S. Cloud, J. Gelb, E. Odor, and J. Dohms. 1985a. Sentinel bird survey of Delmarva broiler flocks. In: Proc 20th National Meeting on Poultry Health and Condemnations, Ocean City, *Elsevier*, MD. 94–101.
- Rosenberger, J.K., and S.S. Cloud. 1985b. Isolation and characterization of variant infectious bursal disease viruses [abst]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 189:357.
- Saif, Y.M. Infectious bursal disease virus types. 1984. In: 19th Natl Meet Poult Health Condemn. Ocean City, *Diseases of Poultry*, MD. 105–107.
- Sanchez, J., H. Stryhn, M. Flensburg, A. Ersbøll, and I. Dohoo. 2005. Temporal and spatial analysis of the 1999 outbreak of acute clinical infectious bursal disease in broiler flocks in Denmark. *Preventive Veterinary Medicine*. 71:209–223.
- Sapats SI, Ignatovic J 2000 Antigenic and sequence heterogeneity of infectious bursal disease virus strains isolated in Australia. *Archives of Virology*. 145: 773-785.
- Sharma, J.M., Kim, I., Rautenschlein, S., Yeh, H., (2000). Infectious Bursal Disease Virus of Chickens: Pathogenesis and Immunosuppression, *Developmental and Comparative Immunology*, 24: 223-235.
- Sharma, J.M., S. Rautenschlein, and H.Y. Yeh. 2001. The role of T cells in immunopathogenesis of infectious bursal disease virus. In: International Symposium on Infectious Bursal Disease and Chicken Infectious Anaemia. *Rauischholzhausen, Germany*. 324–327.
- Singh, N.K., S. Dey, C.M. Mohan, J.M. Kataria, and V.N. Vakharia. 2010. Evaluation of four enzyme linked immunosorbent assays for the detection of antibodies to infectious bursal disease in chickens. *Journal of Virology Methods*. 165:277–282.
- Singh, J., Banga, H., Brar, R., Singh, N. D., Sodhi, S., Leishangthem, G. D., (2015). Histopathological and Immunohistochemical diagnosis of Infectious Bursal Disease in Poultry Birds, *Veterinary World* 8(11): 1331-1339.
- Sivanandan, V., and S. Maheswaran. 1980. Immune profile of infectious bursal disease: I. Effect of infectious bursal disease virus on peripheral blood T and B lymphocytes of chickens. *Avian Diseases*. 715–725.

- Sivanandan, V., and S. Maheswaran. 1981. Immune profile of infectious bursal disease. III. Effect of infectious bursal disease virus on the lymphocyte responses to phyto mitogens and on mixed lymphocyte reaction of chickens. *Avian Diseases*. 112–120.
- Skeeles, J., P. Lukert, E. De Buysscher, O. Fletcher, and J. Brown. 1979. Infectious bursal disease viral infections. I. Complement and virus-neutralizing antibody response following infection of susceptible chickens. *Avian Diseases*. 95–106.
- Skeeles, J., P. Lukert, E. De Buysscher, O. Fletcher, and J. Brown. 1979. Infectious bursal disease viral infections. II. The relationship of age, complement levels, virus-neutralizing antibody, clotting, and lesions. *Avian Diseases*. 107–117.
- Skeeles, J.K., P. Lukert, O. Fletcher, and J. Leonard. 1979. Immunization studies with a cell- culture- adapted infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 456–465.
- Snedeker, C., F. Wills, and I. Moulthrop. 1967. Some studies on the infectious bursal agent. *Avian Diseases*. 11:519–528.
- Snyder, D., V. Vakharia, S. Mengel-Whereat, G. Edwards, P. Savage, D. Lütticken, and M. Goodwin. 1994. Active cross-protection induced by a recombinant baculovirus expressing chimeric infectious bursal disease virus structural proteins. *Avian Diseases*. 701– 707.
- Tanimura, N., Tsukamoto, K., Nakamura, K., Narita, M., & Maeda, M. (1995). Association between Pathogenicity of Infectious Bursal Disease Virus and Viral Antigen Distribution Detected by Immunohistochemistry. *Avian Diseases*, 39(1), 9.
- Takase, K., M.G. Baba, R. Ariyoshi, and H. Fujikawa. 1996. Susceptibility of chicken embryos to highly virulent infectious bursal disease virus. *Journal of Veterinary Medical Science*. 58:1129–1131.
- Terasaki, K., H. Hirayama, C.J. Kasanga, M.T. Maw, K. Ohya, T. Yamaguchi, and H. Fukushi. 2008. Chicken B lymphoma DT40 cells as a useful tool for in vitro analysis of pathogenic infectious bursal disease virus. *Journal of Veterinary Medical Science*. 70:407–410.
- Teshome, M., Admassu, T., (2015). Infectious Bursal Diseases (GUMBORO Diseases) in Chickens, *British Journal of Poultry Sciences* 4(1): 22-28.
- Tham, K., and C. Moon. 1996. Apoptosis in cell cultures induced by infectious bursal disease virus following in vitro infection. *Avian Diseases*. 109–113.

- Thayer, S., P. Villegas, and O. Fletcher. 1987. Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays and conventional methods for avian serology. *Avian Diseases*. 120–124.
- Tsai, H., and Y. Saif. 1992. Effect of cell-culture passage on the pathogenicity and immunogenicity of two variant strains of infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 415–422.
- Tsukamoto, K., T. Matsumura, M. Mase, and K. Imai. 1995. A highly sensitive, broad-spectrum infectivity assay for infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*. 575–586.
- Tsukamoto, K., C. Kojima, Y. Komori, N. Tanimura, M. Mase, and S. Yamaguchi. 1999. Protection of chickens against very virulent infectious bursal disease virus (IBDV) and Marek's disease virus (MDV) with a recombinant MDV expressing IBDV VP2. *Virology*. 257:352–362.
- Vasconcelos, A.C., and K.M. Lam. 1994. Apoptosis induced by infectious bursal disease virus. *Journal of General Virology*. 75:1803–1806.
- Vasconcelos, A., and K. Lam. 1995. Apoptosis in chicken embryos induced by the infectious bursal disease virus. *Journal of Comparative Pathology*. 112:327–338.
- Wagari, A., (2021). A Review on Infectious Bursal Disease in Poultry, *Health Econ Outcome Res Open Access* Vol.7, 2(167): 18-23.
- Wang, D., Y. Liu, R. She, J. Xu, L. Liu, J. Xiong, Y. Yang, Q. Sun, and K. Peng. 2009. Reduced mucosal injury of SPF chickens by mast cell stabilization after infection with very virulent infectious bursal disease virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 131:229–237.
- Wani, B., Darzi, M., Kâmil, S., Shah, S., Adil, S., Ayaşan, T., (2021). Gross, Histopathological, Histoenzymatic and Histochemical Studies on Infectious Bursal Disease in Broiler Chickens, *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(1): 36-45.
- Weisman, J., and S. Hitchner. 1978. Infectious bursal disease virus infection attempts in turkeys and coturnix quail. *Avian Diseases*. 604–609.
- Whitfill, C., E. Haddad, C. Ricks, J. Skeeles, L. Newberry, J. Beasley, P. Andrews, J. Thoma, and P. Wakenell. 1995. Determination of optimum formulation of a novel infectious bursal disease virus (IBDV) vaccine constructed by mixing bursal disease antibody with IBDV. *Avian Diseases*. 687–699.
- Winterfield, R., and S. Hitchner. 1962. Etiology of an infectious nephritis-nephrosis syndrome of chickens. *American Journal of Veterinary Research*. 23:1273.

- Wit, D., Baxendale W., 2022. Canlı aşıların sınıflandırılması. <https://www.gumboro.com.tr/control/vaccination/vaccine-classification/>
- (OIE) WOIA.H. 2004. Infectious bursal disease. In: *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Paris, France. 817–832.
- Woolcock, P.R., R.P. Chin, and Y.M. Saif. 1995. Personal communication. 67 Wyeth, P., and G. Cullen. 1978. Transmission of immunity from inactivated infectious bursal disease oil-emulsion vaccinated parent chickens to their chicks. *Veterinary Record*. 102:362–363.
- Wyeth, P., and N. Chettle. 1990. Use of infectious bursal disease vaccines in chicks with maternally derived antibodies. *Veterinary Record*. 126:577–578.
- Wyeth, P., N. Chettle, and A. Mohepat. 1992. Use of an inactivated infectious bursal disease oil emulsion vaccine in commercial layer chicks. *Veterinary Record*. 130:30–32.
- Xu, J., Z. Zhang, Y. Yin, S. Cui, S. Xu, Y. Guo, J. Li, J. Wang, X. Liu, and L. Han. 2009. Development of reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification for the detection of infectious bursal disease virus. *Journal of Virology Methods*. 162:267–271.
- Yamaguchi, S., T. Imada, and H. Kawamura. 1981. Growth and infectivity titration of virulent infectious bursal disease virus in established cell lines from lymphoid leukosis tumors. *Avian Diseases*. 927–935.
- Yeşilbağ, K., (2021). Veteriner Viroloji: *Hayvanların viral hastalıkları*. Malatya: Medipress Yayınevi.
- Zahid, B., Aslam, A., Anjum, R., Imran, S., Irshad, I., Ara, C., Sadia, H., (2018). Study on Tissue Tropism and Molecular Detection of VP2 Gene of Infectious Bursal Disease Virus in Experimentally Infected Broiler Tissues, *Pakistan Veterinary Journal*, 38(3): 291-295.

EKLER

Ek-1. (ADÜ-HADYEK)



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 23/05/2022

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022 Yılı III. Oturum
Sayı : 64583101/2022/46
Proje Başlığı : Enfeksiyöz Bursal Hastalık (Gumboro) Virus Aşısı ile Aşılanan Cıvcıvlerde Viral Antijen Lokalizasyonlarının İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi.
Proje Yürütücüsü : Nihat TOPLU
Proje Ekibi : Zeynel AYDIN

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:
İnsan embriyosu ve fütusu kullanılması
İnsan embriyosu ve fütusu dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması : İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyonu öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan

(Toplantıya Katılmadı)
Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Furkan DOST
Üye

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARARSLAN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER ORYAŞIN
Sor. Vet. Hek. Üye

Hidayet AMAN
Serbest Vet. Hek. Üye

Arş. Gör. Eda Duygu İPEK
Sor. Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Enfeksiyöz Bursal Hastalık (Gumboro Hastalığı) Virus Aşısı ile Aşılanan Cıvcivlerde Viral Antijen Lokalizasyonlarının İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Zeynel AYDIN

11 / 07 / 2024

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AYDIN Zeynel
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Elazığ / 27.05.1998
Telefon : 0 553 759 59 98
E-posta : zeynel.aydin@tarimorman.gov.tr
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı	(2021-...)
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	(2016-2021)

BURSLAR ve ÖDÜLLER

-

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2022	Çemişgezek İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

-

2. PROJELER

-

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler-

-