



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2010-002**

**AŞILI BROİLER SÜRÜLERİNDE NEWCASTLE VE
İNFEKSİYÖZ BRONŞİTİS VİRUSLARINA KARŞI OLUŞAN
AŞI ETKİNLİĞİNİN ELISA METODU İLE SAPTANMASI**

Vet. Hek. S. Belgin AYDIN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman KAYA**

AYDIN-2010

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2010-002**

**AŞILI BROİLER SÜRÜLERİNDE NEWCASTLE VE
İNFEKSİYÖZ BRONŞİTİS VİRUSLARINA KARŞI OLUŞAN
AŞI ETKİNLİĞİNİN ELISA METODU İLE SAPTANMASI**

Vet. Hek. S. Belgin AYDIN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman KAYA**

AYDIN-2010

ÖNSÖZ

Kanatlı endüstrisindeki iki önemli viral hastalık olan Newcastle Hastalığı ve İnfeksiyöz Bronşitis hastalığı ciddi ekonomik kayıplara ve epidemiyolojik tehditlere yol açmaktadır. Son yıllarda bu iki hastalığa karşı karma aşılar uygulanmakta ve rutin aşı programlarında yerlerini almaktadır. Fakat bu aşılama programlarının etkinliği düzenli olarak araştırılmamaktadır. Kanatlı yetiştiriciliği yapılan bütün ülkelerde görülmekte ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Newcastle virusun saha suşlarına ve yerleştiği doku ve organlara bağlı olarak hastalığın belirtileri, lezyonları ve ölüm oranları değişebilmektedir. % 100'e varan ölüm oranları görülebilir. Sindirim, solunum ve sinir sistemlerinde bozukluklar meydana getirir. Hasta kanatlılarda düşkünlük, iştahsızlık, ishal, solunum güçlüğü, öksürük, merkezi sinir sistemi belirtileri (baş, boyun eğilmesi, felçler) görülebilir.

İnfeksiyöz Bronşitis hastalığı ise genç kanatlılarda solunum sistemi ve böbreklerde bozukluklar yapan ve 18-36 saatte bütün sürüye yayılabilen çok bulaşıcı viral bir hastalıktır. Yumurtlama dönemindeki tavuklarda yumurta verimde ani düşmeler görülür, bazen yumurta verimi sifıra düşebilir ve daha sonra verim hiçbir zaman normal seviyesine yükselemez. Ayrıca yumurta kabuk kalitesinde bozulmalar, kahverengi yumurtalarda renk açılması, kabuksuz yumurta yumurtlama, kuluçkalık yumurta ve civciv çıkış oranlarında düşmeler görülür.

IB virusunun çok sayıda değişik serotipi mevcuttur. Hastalık hava ile sürü içerisinde bulaşabildiği gibi yine aynı yolla çiftlikler arasında da yayılması mümkün olmaktadır. Hastalık kanatlı hayvanlardan sadece tavuklarda görülmektedir. IB virus enfeksiyonu gençlerde bronşların bifurkasyon bölgesinde peynirimsi eksudat oluşumuna sebep olur ve bu da asfeksi'ye sebep olarak şiddetli solunum sistemi bozuklukları oluşturur. Ölüm oranında artmalar görülür. Hastalığı takiben colibasillosis ve *Mycoplasma* enfeksiyonları sıkça görülür. Yumurta periyodunda olan tavuklarda ise yumurta follüküllerinde ve yumurta kanalında bozukluklar şekillenir. İnfeksiyöz bronşitis hastalığının tedavisi yoktur. İnfeksiyöz Bronşitis hastalığının kontrolünde canlı ve inaktif aşılar, usulüne uygun olarak uygulandıkları takdirde olarak koruma sağlamaktadır.

Çalışmamızda her iki hastalık açısından uygulanan aşılamanın etkinliği serolojik olarak ELISA testi ile araştırılmıştır.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER LİSTESİ	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Newcastle hastalığı	2
1.1.1. Tanım ve Tarihçe	2
1.1.2. Etiyoloji	3
1.1.3. Epizootiyoloji ve Bulgular	4
1.1.4. Immunité	6
1.1.4.1. Aktif immunité	6
1.1.4.2. Pasif İmmunité	4
1.1.5. Teşhis	7
1.1.5.1. İnfeksiyon etkeninin izolasyonu ve tanınması	8
1.1.5.2. Seroloji	9
1.1.6. Korunma ve kontrol	9
1.1.6.1. Aşılama	10
1.2. İnfeksiyöz Bronşitis (IB)	12
1.1.1. Tanım ve tarihçe	14
1.1.2. Etiyoloji	15
1.1.3. Patogenezis, Epizootiyoloji ve Bulgular	16
1.1.4. Immunité	18
1.1.4.1. Aktif bağışıklık	18
1.1.4.2. Pasif bağışıklık	19
1.1.5. Teşhis	20
1.1.5.1. Seroloji	20
1.1.6. Ayırıcı tanı	21
1.1.7. Korunma ve kontrol	21
1.7.2.1. Aşılama	21
1.2.3. Tedavi	23

2. GEREÇ VE YÖNTEM	24
2.1. Gereç	24
2.1.1. Araştırma Materyali	24
2.1.2. Aşılar ve Aşılama Programı	25
2.1.3. ELISA kitleri	25
2.2. Yöntem	25
2.2.1. Newcastle hastalığı	26
2.2.1.1. İşlem	26
2.2.1.1.1. Antikor titresinin hesaplanması	29
2.2.2. İnfeksiyöz Bronşitis	28
3. BULGULAR	31
3.1 ND hastalığına ait bulgular	31
3.2 IB hastalığına ait bulgular	33
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ	41
6. ÖZET	42
7. SUMMARY	43
8. KAYNAKLAR	44
9. ÖZGEÇMİŞ	53
TEŞEKKÜR	54

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1.5.1.1.	Newcastle hastalığı virusunun çeşitli suşları ile elde edilen patojenite endeksi örnekleri	9
Çizelge 1.1.6.1.1.	Yaygın kullanılan canlı aşı suşları ve ilgili ICPI değerleri	11
Çizelge 2.1.2.1.	Kullanılan örnekler ve aşılama programı	25
Çizelge 2.2.2.1.	Aşı tipi, kullanılan suşlar ve ortalama titre değerleri	30
Çizelge 3.1.1.	Newcastle hastalığı için ELISA titre ve %CV değerleri	31
Çizelge 3.1.2.	Newcastle hastalığı için ELISA titre ve %CV değerleri	32
Çizelge 3.2.1.	İnfeksiyöz bronşit için ELISA titre ve CV değerleri	33
Çizelge 3.2.2.	İnfeksiyöz bronşit hastalığı için ELISA titre ve CV değerleri	33
Çizelge 3.2.3.	ND ve IB için ELISA sonuçları karşılaştırılması	35

1. GİRİŞ

Kanatlı endüstrisindeki iki önemli viral hastalık olan Newcastle Hastalığı ve İnfeksiyöz Bronşitis hastalığı ciddi ekonomik kayıplara ve epidemiyolojik tehditlere yol açmaktadır. Son yıllarda bu iki hastalığa karşı karma aşılar uygulanmakta ve rutin aşı programlarında yerlerini almaktadır. Fakat bu aşılamaaların etkinliği düzenli olarak araştırılmamaktadır.

Newcastle hastalığı (ND), Office International des Epizooties (OIE 2002) tarafından Liste-A hastalıklar arasında incelenen, bir çok ülkede de hastalığın kontrolü amacıyla kanuni önlemlerin alındığı (Commission of the European Communities 1992), kanatlı sektörü için ciddi tehlike oluşturan viral bir hastalıktır. Hastalığın yüksek ölüm oranı ile seyretmesi ve hızlı yayılımı, hastalığın kontrolünde hızlı ve güvenilir teşhis yöntemlerini gerekli kılmaktadır.

Newcastle Hastalığı Virusü (NDV) Okyanusya ülkeleri hariç, tüm dünyada yaygın olarak bulunan ve 250'nin üzerinde kuş türünde (Alexander ve ark 1997, Aldous ve Alexander 2001), asemptomatikten % 100 ölümcül forma kadar değişebilen şiddette, virus süşunun afinitesine bağlı olarak, sindirim, sinir, ve/veya solunum sistemi organlarına yerleşerek buna bağlı klinik bulgularla hastalık tablosu oluşturan bir RNA virusudur. Organ affinitesi ve oluşturduğu hastalık şiddetine göre:

- **Viserotropik velojenik* (sindirim sisteminde hemorajik lezyonlar, yüksek virulens),
 - **Nörotropik velojenik* (solunum ve sinir sistemi bulgularını takiben yüksek ölüm oranı),
 - **Mezogenik* (solunum ve sinir sistemi bulguları, düşük ölüm oranı),
 - **Lentogenik* (solunum sisteminde zayıf veya belirsiz bulgular),
 - **Asemptomatik enterik* (belirsiz barsak infeksiyonu),
- olmak üzere beş grup altında incelenmektedir (Aydın 2002).

Hastalığın seyrettiği forma göre; *sindirim sisteminde*; yemek borusu, ön mide ve barsak mukozasında hemoraji, ülserasyon ve nekrozlara bağlı olarak sarı-yeşil ishal, dehidrasyon, zayıflama ve yumurta veriminde hızla düşüş, *solunum sisteminde*; trakeal mukozada hemoraji ve konjesyon ile farinkste biriken köpüklü mukus sebebiyle solunum güçlüğü, öksürük ve tıksırık, *sinir sisteminde*; beyin zarında hemoraji ve non-purulent ensefalomyelitis sonucu, kanatların ve bacakların iki taraflı paraliz, kanatlarda, boyun ve bacaklarda spazm, tortikollis, ataksi, dairesel hareketler, baş ve boynun aşağı yukarı sallanması şeklinde belirtiler görülmektedir. *Escherichia coli* ve *Mycoplasma gallisepticum* gibi ikincil etkenlerin olaya karışması bulguların ciddiyetini arttırmaktadır (OIE 2002, Kouwenhoven 1993). Etkenin teşhisinde serolojik amaçlı teşhis çalışmalarında, Hemaglutinasyon İnhibisyon ve ELISA testleri kullanılmaktadır (Seal ve ark 1995).

Araştırmamızda aşılı broiler sürülerinde Newcastle ve İnfeksiyöz bronşitis viruslarına karşı oluşan aşı etkinliğinin ELISA metodu ile saptanması hedeflenmiştir.

1.1. Newcastle hastalığı

1.1.1. Tanım ve Tarihçe

Tanımlanan ilk virus takımı olan Mononegavirales takımı; tek iplikçikli, segmentsiz RNA virus olan *Paramyxoviridae* ve *Rhabdoviridae* virus ailelerinden oluşmaktadır. *Paramyxoviridae* ailesi iki alt aileden oluşmaktadır. *Paramyxovirinae* alt ailesinde 3 cins bulunmaktadır; bunlardan birisi Newcastle hastalığı virusunun dahil olduğu *Rubulavirus* cinsidir. *Paramyxoviruslarda* PMV-1' den PMV-9'a dek olmak üzere 9 adet serogrup tanımlanmıştır. Bunlardan PMV-1 (Newcastle hastalığı virusu) NDV, tavuklar için en önemli patojenlerdendir.

Genel olarak Newcastle hastalığının ilk salgınların 1926'da JAVA'da Endonezya'da ve Newcastle-upon-Tyne, İngiltere'de ortaya çıkmıştır. 1926 yılında Orta Avrupa'nın çeşitli bölgelerinde olan salgınlar olduğu ve hatta Levine'in tarafından 1924'te Kore'de de

varolduğu bildirilmiştir. Doyle tarafından hastalığın ismi diğer hastalıklarla karıştırılmaması için geçici olarak “Newcastle Disease” koyulmuştur (Alexander DJ ve ark 2004).

1.2.2. Etiyoloji

Newcastle Disease virusu (NDV); *Paramyxovirus* ailesine ait olan RNA virusları spiral kapsid simetrisi gösteren, segmentsiz, tek iplikekli ve negatif polarite gösteren bir genomdur. Zarflı viruslardır. Alt aile olan *Paramyxovirinae*'de ise 3 cins bulunur. Newcastle virusu Rubulaviruslardandır.

NDV ve diğer avian *Paramyxovirusların* da, grubu karakterize eden bazı biyolojik özellikler bulunmaktadır. rn; hemaglutinasyon aktivitesi, neuraminidaz aktivitesi ve hücre füzyonu ve hemoliz özelliği gibi. NDV ve diğer avian Paramyxoviruslar fiziksel veya kimyasal bazı ajanlarla; ısı, radyasyon (ışık ve ultraviyole ışınlar dahil) oksidasyon işlemleri, pH etkileri ve farklı kimyasal bileşenler gibi harabolurlar. İnfektivitelerinin bozulması virus suşuna, etkiye maruz kalma süresine virus miktarına, ortamın niteliğine ve uygulamalar arasındaki etkileşimlere bağlı olarak değişebilmektedir. Ancak hiçbir ajanla yapılan tek bir uygulama virusların tamamının yok edilmesini garantileyemez ancak infeksiif virus miktarını çok azaltabilir (Beard ve Hanson 1984).

Suş sözcüğü genel olarak bir virusun iyi karakterize edilmiş bir izolatını ifade etmektedir. Virusların sınıflandırılmasındaki temel hedef benzer virusları gruplandırmaktır. NDV izolatları için kaçınılmaz olarak tavuklar için yüksek ve düşük virulanslı virusların ayırdedilebilmesidir. Bir izolatın öneminin saptanmasında patojenite testleri yararlı olmaktadır. VN testi veya agar jel difüzyon teknikleri, NDV'nin farklı izolatları ve suşları arasında kk farklılıklar ortaya koymuştur. Ancak pratik olması bakımından NDV izolatlarının, antijenik olarak tek bir homojen grubu temsil ettiği kabul edilmektedir. Monoklonal antikor (MAB) teknolojisi de NDV suşlarının antijenik olarak ayırdedilmesinde yeni yaklaşımlar sunmaktadır (Erdei ve ark 1987, Srinivasappa ve ark 1986, Hoshi ve ark 1983). Monoklonal antikorlar antijenitesindeki antikorun yönlendiği epitoptaki tek bir amino asit farklılığı gibi kk farklılıkları dahi saptayabilmektedirler. Sonuç olarak da sadece suşlar arasındaki farklılıkları değil virusun grup içindeki alt grupları arasındaki farklılıkları da saptayabilmektedir (Hanson 1988). Bazı araştırmacılar da MAB ları spesifik virusların

ayırddedilmesinde kullanmışlardır. Örneğin yaygın kullanılan iki aşı suşu olan La Sota ve Hitchner B1 (Erdei ve ark 1987, Meulemans ve ark 1987) suşlarının farklılıklarını araştırmışlar ve başka araştırmacıları da belirli bir bölgede epizootik virus ile aşı virusunu ayırdetmekte MAB kullanmışlardır (Srinavasappa ve ark 1986). Aynı grupta olan viruslar, biyolojik ve epizootiyolojik özellikleri paylaşmaktadırlar. Virusların ayırddedilmesi veya izolatların gruplandırılması için ilk girişim virulansın değerlendirilmesi şeklinde yapılmıştır. Hanson ve Brandley, allantoik inokülasyondan sonra civciv embryonik ölümlerinin <60. saat, 60-90 saat ve >90. saat olmasına göre sırasıyla NDV suşlarını “velojenik”, “mezojenik” ve “lentojenik” olarak gruplandırmışlardır (Saif YM (2003). Elde edilen değerler infekte tavuklarda oluşan hastalık için bir rehber oluşturmaktadır. Bu değerlendirmede terimler yüksek virulans, orta virulans ve düşük virulans olarak ta kullanılmaktadır.

Suşların ayırddedilmesinde kullanılan diğer bazı testler doğrudan klinik bulguların veya infekte hayvanlardaki ölüm oranlarının değerlendirilmesine dayanmaktadır. En çok kullanılan testler günlük civcivlerde intraserebral patojenite endeksi (ICPI) ve 6 haftalık hayvanlarda intravenöz patojenite endeksi (IVPI) dir.

Yukarıdakilerden başka, sınıflandırma için plak oluşumu, elüsyon, izolatların HA aktivitesinin termostabilitesi, yapısal polipeptidler, lektin bağlama gibi yöntemler de kullanılan yöntemlerdendir.

1.2.3. Epizootiyoloji ve Bulgular

ND aşılarının ticari tavukçulukta tüm dünyada kullanılması Newcastle hastalığının coğrafi dağılımı hakkında gerçekçi değerlendirmeler yapmayı (virulant virusla infekte olan hayvan sayısı gibi konularda) zorlaştırmaktadır. FAO ve OIE gibi uluslararası organizasyonlarca takip edilen bir hastalık olmakla birlikte eldeki veriler hastalığın gerçek yayılımını göstermemektedir. Hastalığın dünyadaki dağılımı eradikasyon çalışmalarına, tavukçuluk endüstrisinin yapısına bağlıdır.

Literatüre göre (Kaleta ve Baldauf 1988) evcil kanatlılara ilaveten NDV'nin doğal ya da deneysel infeksiyonları, kuşların oluşturduğu 50 takımdan 27 sine dahil en az 247 cinste

göstermişlerdir. Aynı türün farklı cinslerinde klinik bulguların şiddetinde ciddi farklılıklar bulunmaktadır.

NDV'nin hayvanlar arasında yayılma yolları konusundaki derlemelerde Alexander (1988), infeksiyonun ya aerosol veya injesyon yoluyla olabileceği ve hayvandan hayvan geçişinin virusun infeksiyöz formunun varlığı ile ilişkili olduğu sonucuna varmıştır. NDV'nin hayvanlar arasında geçişi için infeksiyöz virusun ince aerosoller (mini damlacık) veya büyük damlalar halinde duyarlı hayvanlar tarafından yutularak gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu da kitle halinde aşılamalarda canlı aşuların sprey veya aerosol jeneratörleri ile uygulanması yolunu açmıştır (Meulemans 1988).

Lancaster ve Alexander (Saif Y 2003, Alexander 1988) NDV infeksiyonunun yayılma yollarını gözden geçirmişlerdir. Değişik bölgelerde farklı virus kaynakları ve yöntemleri; canlı kanatlıların nakli, diğer hayvanlarla temas, insan ve araç gereç hareketi tavuk ürünlerinin hareketi, hava yoluyla yayılma, bulaşık tavuk yemi, bulaşık su ve aşular olarak belirlenmiştir. Bu faktörlerin önemi duruma göre değişmektedir.

Doğal infeksiyonda NDV'nin inkübasyon süresi 2-15 gün (ortalama 5-6) gün olarak bildirilmektedir. Hastalık bulgularının ortaya çıkma hızı virusa, konakçı türlere ve yaşa ve immunité durumuna, diğer organizmalarla infeksiyona, çevre şartlarına, maruz kalma yolu ve dozuna bağlıdır.

Klinik bulgu olarak, çok virulent suşlarla olan infeksiyonlarda hastalık aniden başlayıp diğer klinik belirtilerden önce yüksek mortalite ile seyredilmektedir. VVND patotipi ile tavuklarda görülen infeksiyonda klinik bulgular sıklıkla kayıtsızlık, artan solunum hızı ve ölümlü sonuçlanan halsizlik şeklindedir. Bu tip vND göz çevresi ve başta ödemlere yol açabilmektedir. İnfeksiyonun başlangıcında ölmeyen hayvanlarda yeşil ishal görülebilir. Duyarlı hayvanlardan oluşan sürülerde mortalite % 100'e ulaşabilmektedir.

NDVnin mezojenik suşları genellikle sahada solunum sistemi hastalığına yol açmaktadır. Erişkin hayvanlarda birkaç hafta boyunca yumurta verimi düşebilmektedir.

Yaygın olmasa da sinirsel bulgular ortaya çıkabilir. Çok genç ve duyarlı hayvanlar hariç mortalite çoğunlukla düşüktür.

Lentojenik suşlar ise genellikle sahada infeksiyona yol açmamaktadır. Tam duyarlı gençlerde, daha patojen suş olan La Sota ile olan ve bir veya daha fazla sayıda diğer mikroorganizmalarla komplike olan infeksiyonda ciddi solunum problemleri ölümlerle sonuçlanabilmektedir (Saif 2003).

1.2.4. Immunité

1.2.4.1. Aktif immunité

NDV'nin yol açtığı infeksiyona verilen ilk immun yanıt hücrelidir ve canlı aşı suşları ile olan infeksiyondan sonraki 2.-3. gün kadar erken dönemde saptanabilmektedir. Bu aşılannmış hayvanlarda deneysel infeksiyona karşı ölçülebilir bir antikor yanıtından önceki erken korunmayı açıklamak için düşünülmüştür (Saif 2003). Ancak daha sonra yapılan bir çalışmada (Reynolds ve Maraqa 2000) virulent NDV ile deneysel infeksiyonda sadece NDV'ye karşı hücreli bağışıklık yanıtının korumada yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır. Aşılar tarafından sağlanan hücreli bağışıklığın korumasının önemi bu nedenle belirsizdir ve deneysel infeksiyona karşı antikor yanıtına benzer güçlü ikincil bir yanıt ortaya çıkmamaktadır .

Konakçı hayvanı koruyabilen antikorlar VN testleri ile ölçülebilmektedir. VN yanıtı, HI yanıtına paralel görüldüğü için HI testi özellikle aşılardan sonra sıklıkla koruyucu yanıtı değerlendirmek için kullanılmaktadır. NDV infeksiyonunda hayvanlar yeterince uzun yaşayabilirlerse 6-10 gün içinde serumlarında antikorlar saptanabilmektedir. Antikor düzeyleri büyük oranda suşa bağlıdır ancak ortalama olarak pik yanıt 3-4 haftada görülür. Antikor seviyelerindeki düşüş artışa göre çok daha uzun sürede olmaktadır. Mezojenik viruslar infekte olmuş veya bir dizi aşılama geçirmiş hayvanlarda HI antikorları 1 yıla kadar saptanabilmektedir. Titrenin düşmeye başlamasından birkaç hafta sonraki reinfeksiyon veya immunizasyon ile sekonder yanıt gelişir (Allan ve ark 1978).

Humoral antikorların ilk saptanmaya başladığı zamanlarda üst solunum yolları ve sindirim sistemindeki salgılarda antikorlar görülmeye başlar. Üst solunum yollarındaki

immunoglobulinler başlıca IgA ve IgG'dir. Benzer salgılar parenteral değil ama oküler infeksiyonda Harderian bezlerinde de bulunmaktadır (Powell ve ark 1979). Solunum aygıtının humoral immuniteden bağımsız bir yolla korunmasında rolü olduğu düşünülse de lokal immunitenin tam fonksiyonu bilinmemektedir. Harderian bezinde virusun replikasyonu ile sonuçlanan Hitchner B1 suşu içeren aşı ile göz damlası yoluyla aşılama, replikasyon lakrimal sıvıda maternal IgG bulunduğunda önlenbilirdi. Virusun Harderian bezinde replikasyonu; lakrimal IgG, IgA ve IgM üretimi ile sonuçlanmaktadır (Russel 1993). Tavuklarda, Harderian bezi IgA oluşturan hücreler için özel bölge haline gelmiştir (Russel ve Kock 1993). Russel ve Ezeifeke (1995), konjunktival infeksiyonlarda virusun temizlenmesinde en etkili antikor sınıfının IgM olabileceğini vurgulamıştır.

1.1.4.2. Pasif İmmunite

NDV antikorunu taşıyan tavuklar bunları yumurta sarısı aracılığı ile döllerine geçirmektedir. Günlük civcivlerdeki antikor seviyeleri doğrudan ana ile ilişkilidir. Allan ve arkadaşları (1978) maternal olan antikorların HI titresinin her 2 kat azalmasının yaklaşık 4-5 gün sürmekte olduğunu tahmin etmişlerdir. Maternal immunité civcivi korumaktadır ve bu nedenle de ilk aşılamanın tarihi saptanırken göz önüne alınmalıdır.

İmmün yanıtın bastırılması (supresyonu) hem infekte eden NDV suşlarının patojenitesine hem de aşılama ile elde edilen koruma düzeyine önemli etkiler yapmaktadır. Doğal şartlar altında immunosupresyon başka virusların, örneğin İnfeksiyöz Bursal Hastalık virusunun işe karışması ile oluşabilmektedir. Sonuçta oluşan immü yetersizlik bazı NDV suşlarından kaynaklanan infeksiyonun daha şiddetli olması ve aşılamalara yetersiz yanıt gelişmesi olmaktadır (Rosenberger ve Gelb 1978).

1.2.5. Teşhis

NDV infeksiyonlarının teşhisindeki amaç, hastalığa karşı kontrol önlemlerinin alınmasının gerekip gerekmediğine karar vermek ve epidemiyolojik araştırmalara destek olacak bulgular elde etmektir. NDV infeksiyonunda lezyonlar ve klinik bulgular teşhise yardımcı olmamaktadır ve hastalığın suş, konakçı türü ve diğer faktörlere bağlı olarak birçok farklılıklar gösterebilmesinden dolayı en fazla NDV hastalığını akla getirmektedir.

1.1.5.1. İnfeksiyon etkeninin izolasyonu ve tanınması

Organ ve dokularda virus veya viral antijen varlığı immunohistolojik metodlarla hızlı saptanabilmektedir. Immunofloresans teknikleri, impresyon smearleri ve immunoperoksidaz teknikleri de kullanılabilir. Kesin NDV teşhisinde suş karakterizasyonuna da olanak tanıyan tek yöntem virus izolasyonudur. Virulent viruslar birçok hücre kültürü sisteminde üretilirler. Rutin NDV izolasyonu için primer hücre hatları hatta hücre hatları da kullanılabilir. Ancak embriyolu tavuk yumurtası çok yüksek duyarlı ve NDV'nin üretilmesi için çok uygun bir ortamdır. Bu nedenle de yaygın olarak teşhiste kullanılmaktadır. Embriyolu tavuk yumurtası SPF bir sürüden elde edilip 9-10 gün, 37°C de inkübe edildikten sonra kullanılmalıdır. Numuneler ise NDV'nin organizmada 2 temel replikasyon alanı olan solunum sistemi veya barsaklardan alınmalıdır. Hazırlanan numunelerden uygun embriyolu tavuk yumurtalarına inokülasyon yöntemiyle virus izolasyonu yapılmaktadır.

Lentojenik suşların sahada diğer kanatlılarda yaygın olması ve canlı aşılarla da kullanılması nedeniyle hastalık teşhisi için virus izolasyonu yeterli olmayacaktır. Bundan dolayı da virus karakterizasyonu da pratikte gerekli olmaktadır (Bennejean 1988). NDV izolatının önemi ve vereceği zarar doğrudan izolatın patojenitesine bağlıdır. Sahadaki bulgular bunu değerlendirmede yeterli olmayabileceğinden dolayı patojenite için laboratuvar değerlendirmesi uygulanmaktadır. Bu amaçla. Yumurtalarda ortalama ölüm zamanı (MDT), Günlük civcivlerde intraserebral patojenite indeksi (ICPI) ve 3-6 haftalık piliçlerde intravenöz patojenite indeksi (IVPI) 3 in vivo test yöntemi, kullanılmaktadır.

Özel durumlarda bu testlerde bazı modifikasyonlar yapılabilmektedir. Hanson (1980) VVND ve diğer lentojenik virusların ayırdedilebilmesi için 6 haftalık piliçlerden alınan kloaka ve konjunktiva svaplarını sulandırılmamış allantoik sıvı ile yaparak IVPI'ya benzer bir metod kullanmıştır. Bu üç testle ilgili örnek değerler bazı belli başlı ND suşları için Çizelge 1.1.5.1.1.'de sunulmaktadır.

Çizelge 1.1.5.1.1. Newcastle hastalığı virusunun çeşitli suşları ile elde edilen patojenite endeksi örnekleri

Virus suşu	Patotip	ICPI^a	IVPI^b	MDT^c (saat)
Ulster 2C	Aseptomatik	0.0	0.0	>150
Quennsland V4	Aseptomatik	0.0	0.0	>150
Hitchner B1	Lentojenik	0.2	0.0	120
F	Lentojenik	0.25	0.0	119
La Sota	Lentojenik	0.4	0.0	103
H	Mesojenik	1.2	0.0	48
Mukteswar	Mesojenik	1.4	0.0	46
Roakin	Mesojenik	1.45	0.0	68
Beaudette C	Mesojenik	1.6	1.45	62
Texas GB	Velojenik	1.75	2.7	55
NY parrot 70181	Velojenik	1.8	2.6	51
Italien	Velojenik	1.85	2.8	50
Milano	Velojenik	1.9	2.8	50
Herts 33/56	Velojenik	2.0	2.7	48

^aICPI ; günlük civcivlerde intraserebral patojenite indeksi ^bIVPI ; 6 haftalık piliçlerde intravenöz patojenite indeksi

^cMDT; Bir minimum letal doz ile infekte edilmiş civciv embryolarında ortalama ölüm zamanı (saat) (Saif 2003)

1.1.5.2. Seroloji

Bir kanatlının serumundaki NDV'ye ait antikorlar hastalığa yolaçan virus suşu hakkında çok fazla bilgi vermemektedir ve bu nedenle de teşhis değeri sınırlıdır. Ancak yine bazen hastalığın varolduğunu bile saptamak bazı şartlar altında teşhiste yeterli olabilmektedir. Seroloji, aşılama sonrası aşının başarılı uygulanıp uygulanmadığını ve hayvanın yeterli immun yanıt verip vermediğinin teyidi için kullanılabilir. Kanatlı serumlarında NDV çeşitli testlerle saptanabilmektedir; tek radyal immunodifüzyon, tek radyal hemoliz, agar jel presipitin, civciv embryosunda VN, plak nötralizasyon gibi. ELISA testler ise özellikle sürü takibinde çok kullanılan testler haline gelmiştir.

1.2.6. Korunma ve kontrol

Newcastle hastalığına karşı korunma önlemlerinin alınmasında temel amaç enfeksiyona duyarlı hayvanlarda enfeksiyonun önlenmesi veya aşılama yöntemi ile duyarlı

hayvan sayısının azaltılmasıdır. Uluslararası ve ulusal temelde infeksiyonun yayılması için çeşitli önlemler alınmaktadır. Ancak hastalığın bölgeye girişi ve yayılmasının önlenmesinde tavuk çiftliklerinde hayvanların yetiştirilme şartları ve biyogüvenlik önlemleri büyük önem taşımaktadır. Her ne kadar bir çok biyogüvenlik önleminin uygulayıcılar tarafından pahalı ve çok zaman gerektirdiği düşünülebilse de bu önlemler alındığında NDV hastalığının tavuk sürülerine girmesi ve tavukçuluk endüstrisine yayılması ciddi oranda azaltılmış olacaktır. Bu önlemler ayrıca başka endemik hastalıkların yayılmasını da önlemekte ve kanatlı üretiminde karlılık için önemli bir yatırım olarak görülmektedir.

1.2.6.1. Aşılama

İdeal olarak aşılama, NDV hastalığına karşı immunité ve virus replikasyonunun önlenmesi ile sonuçlanmalıdır. Ancak sahada ND aşılması genellikle hayvanları hastalığın şiddetli etkilerinden korumakla birlikte virus replikasyonu ve yayılması azalmakla birlikte bir dereceye kadar devam etmektedir (Alexander ve ark 1999, Guittet ve ark 1993, Parede ve Young 1990). Aşılama, hiçbir koşulda bioseküríte, sürünün iyi bir şekilde sevk idare edilmesi veya iyi hijyenik şartlara bir alternatif olarak görülmemelidir. ND hastalığının ilk kez ABD’de tanımlanmasının ardından, önce inaktif aşılar daha sonra ise canlı aşılar kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak mezojenik bir canlı aşı olan Roakin (Saif 2003) ve ardından da halen dünyada yaygın olarak kullanılan ve daha mild olan Hitchner B1 ve La Sota (Goldhaft 1980) suşları içeren aşılar geliştirilmiştir.

Canlı aşılar: Canlı aşılar 2 gruba ayrılabilir; lentojenik aşılar ve mezojenik aşılar (Tablo 1.1.6). Mezojenik aşılar, OIE sınıflandırmasında vND’den sorumlu virüslere karşılık gelmektedir. Bu nedenle de sadece ND’nin endemik olduğu ülkelerde kullanılmaktadır. Aşılar karşısı olan immun yanıt aşı virusunun patojenitesine bağılı olarak artmaktadır. Diğer bir deyişle aşı virusunun patojenitesi arttıkça canlı aşıya verilen immun yanıt da artmaktadır (Reeve ve ark 1974). Bu nedenle ciddi bir reaksiyon olmadan istenen düzeyde korunma sağılamak için aşı programlarında ya gitgide daha virulent virüslerin kullanılmasını ya da canlı aşıdan sonra inaktif aşı kullanılmasını gerektirmektedir. Yaygın olarak kullanılan canlı aşı suşları ve tavuklar için patojenite endeksleri Çizelge 1.1.6.1.1.’de sunulmaktadır.

Çizelge 1.1.6.1.1. Yaygın kullanılan canlı aşı suşları ve ilgili ICPI değerleri

Virus	Patotip	ICPI ^a	Türev	Tavuklarda kullanımı	Uygulama yolu ^b
La Sota	Lentojenik	0.4	Saha izolatu	Primer	in,io,dw,sp,aer ^c
F (Asplin)	Lentojenik	0.25	Saha izolatu	Primer	in,io,dw,sp,aer ^c
Hitchner B1	Lentojenik	0.2	Saha izolatu	Primer	in,io,dw,sp,aer,bd
V4	Aseptomatik enterik	0.0	Saha izolatu	Primer	in,io,sp,aer,oral
H ^d suşu	Mezojenik	1.4	Yumurtada pasajla attenüe edilmiş	Sekonder	im,sc
Mukteswar ^d	Mezojenik	1.4	Yumurtada pasajla attenüe edilmiş	Sekonder	im,sc
Roakin ^d	Mezojenik	1.45	Saha izolatu	Sekonder	im, ww

^aICPI, intraserebral patojenite endeksi

^baer=aerosol, bd=gaga daldırma, dw=içme suyu, im = intramuskuler, in = intranasal, oral= oral, sc= subkutan, sp= kaba sprey, ww= wing web

^c Bu aşilar aerosol yoluyla uygulandıgında ciddi reaksiyonlara yol açabilir.

^dHalen endemik infeksiyonun olduğu bölgelerde kullanılmaktadır (Saif 2003).

Canlı aşiların uygulanmasında amaç sürüde, tercihen her bir hayvanda bir infeksiyon oluşturmaktır. Intranasal, gözdamlası, gaga daldırma gibi bireysel uygulamalar sıklıkla lentojen virus aşilarında kullanılmaktadır. Mezojenik aşilara ise genellikle kanattan veya kasiçi yolla inokülasyonlar uygulanmaktadır. Canlı aşiların en önemli avantajları ucuz bir yöntem olan kitle uygulamasına uygun olmalarıdır. Muhtemelen dünyada en sık kullanılan uygulama yolu içme suyu içinde yapılandır. Ayrıca yine kitle uygulaması yöntemi olarak aerosol veya sprey tarzındaki uygulamalar da çok sayıda hayvanın kısa sürede aşilanabilmesi yönünden yaygındır.

İnaktif aşilar kısaca infekte allantoid sıvıda çoğaltılan virusun çeşitli maddelerle; formalin, β -propiolakton kullanılması ile öldürülmesi ve sonra bir taşıyıcı adjuvan eklenmesi ile üretilmektedir. Bu amaçla Ulster 2C, LA Sota, B1, Roakin gibi değişik suşlar kullanılmaktadır ve birden fazla hastalığa ait antijenler biraraya getirilerek bivalan veya polivalan aşilar elde edilebilmektedir. Örnek olarak Newcastle hastalığı, infeksiyöz bronşit, infeksiyöz bursal hastalık gibi hastalıklara ait antijenler gösterilebilir (Meulemans 1988).

İnaktif aşilar SC veya IM yolla enjeksiyon yoluyla uygulanmaktadır. İnaktif aşiların canlı aşilara göre üretim maliyeti daha yüksek ve üretim süresi daha uzundur. Canlı aşilar gibi maternal antikordardan etkilenmedikleri için günlük civcivlerde de uygulanabilmektedirler (Saif 2003). İnaktif aşiların canlı aşilara göre en önemli avantajlarından birisi de aşılan hayvanlardaki aşı reaksiyonlarının çok düşük oranda olmasıdır. Canlı aşiların uygun olmadığı durumlarda örn; başka patojenlerle komplikasyon varsa uzun süreli olan çok yüksek antikor düzeyleri inaktif aşilarla elde edilebilmektedir. Aşılama programları bölgede bulunan hastalıklara, maternal immunité durumuna, diğér aşilara, sürü büyüklüğüne, sürünün yaşam süresine, maliyete, iklim ve işgücü şartları gibi yerel koşullara bağılı olarak belirlenmektedir.

NDV hastalığı için aşılama ile elde edilen immun yanıt HI titreleri ile saptanmaktadır. Duyarlı hayvanların canlı bir lentojenik aşı ile bir kez aşılınması 2^4 - 2^6 şeklinde bir yanıt oluşturmaktadır. Ancak yağlı emülsiyonlu içeren bir aşı ile uygulanan bir programda 2^{11} kadar yüksek HI titresine ulaşılabilir. Gerçek değerlerin elde edilmesi ve belirli bir sürü ve programda elde edilerek immunitenin derecesi ve süresinin bu değerlerle ilişkisinin tahmin edilmesi kolay değildir (Saif 2003).

1.3. İnfeksiyöz Bronşitis (IB)

Kanatlıların akut ve hızla yayılan, ekonomik kayıplara sebep olan, viral solunum sistemi hastalığıdır (Ballal 2005, Butcher 2002, De Wit 2000, Kotani 2000). Verim düşüklüğünden kaynaklanan kayıplar genellikle ölümlü sonuçlanan kayıplarla ilgili olmakla birlikte broyler kümeslerinde ekonomik önemi daha fazladır (Cavanagh 2003). Hastalıkta nefes almada zorluk, öksürük aksırık, trakeal hırıltı ve burun akıntısını içeren solunum sistemi bozuklukları görülür. Genç hayvanlarda, şiddetli solunum güçlüğü ortaya çıkabilir. Özellikle hastalık

civcivlerde çok daha şiddetli seyrederek ve genel semptomlara ilave olarak burun akıntısı görülür (Esendal 2002). Broylerlerde ölüm genellikle yaşamlarının son iki haftasında (5. ve 6. haftalarda) en üst seviyededir. Ölümler genellikle IB infeksiyonundan etkilenen solunum sistemine yerleşen bakterilerin oluşturduğu sistemik infeksiyonlar sonucu oluşan sekonder infeksiyonlar sebebiyle olur (Cavanagh 2003).

Hastalık ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri'ndeki bir kanatlı sürüsünde 1931 yılında tanımlanmıştır (Bijlenga 2004, Cavanagh 2003, Butcher 2002, Cook 1999). İlk olarak genç hayvanlarda ortaya çıkmıştır, daha sonra Beach ve Schalm 1936 yılında genç hayvanların infeksiyöz bronşitisi olarak adlandırmışlardır. Beaudette ve Hudson 1937'de ilk olarak virüsü 12 günlük embriyolu tavuk yumurtalarında üretmişlerdir (Ballal 2005, Bijlenga 2004). Yumurta üretiminde düşüş ve kalitesindeki bozulma ilk olarak 1951 yılında tanımlanmıştır (Ballal 2005, Cavanagh 2003). Günümüze kadar, hastalık dünyanın her tarafında broylerlerde, yumurtacılar ve damızlıklarda tespit edilmiştir. Kanatlılardaki kayıpların azaltılmasına yardım etmek için aşılarda ilk olarak 1950'lerde kullanılmıştır (Cavanagh 2003, Butcher 2002, Fabricant 2000). IB virusunun genetik yapısı kolaylıkla mutasyona uğrayabilir ve değişebilir. Bu sebeple çok sayıda serotip tanımlanmıştır ve aşı ile kontrol altına alınmaya çalışılması oldukça karmaşıktır (Butcher 2002). Serolojik çalışmalar IBV'nin 20 den fazla farklı serotipe ayrıldığını ortaya koymuştur (Farsang 2002). Kuzey Amerikadaki üç yaygın serotip olan Massachusetts, Connecticut ve Arkansas 99 isimli IB virus suşları en çok tanınanlardır.

Solunum sistemine afinitesi olan suşlar Massachusetts (muhtemelen en yaygın serotip) ve Connecticut'dır. IB virusunun birkaç suşu, böbreklere güçlü afiniteye sahiptir (nefrotropik suşlar). T, Gray ve Holte suşları nefrotropiktirler (Esendal 2002). Bu suşlar böbrek hasarına sebep olabilirler. Böbrek hücrelerine olan bu duyarlılığın değiştirilmiş canlı IB aşılarının yaygın kullanılmasından sonraki baskı sonucu mutasyondan olabileceği belirtilmiştir. Bu solunum hücrelerindeki IB virus infeksiyonuna karşı koruma amacıyla canlı IB aşılarının kullanılmaya devam edilmesinden sonra, daha zayıf korumalı yeni hücrelerin viral mutasyonunun sonucunda infekte olduğu bildirilmiştir. Bu virusların son yıllarda daha yaygınlaştığı görülmüştür (Butcher 2002).

Her yaştaki kanatlılar IB hastalığından etkilenebilirler, fakat hastalığın en kötü şekli olan ölümle sonuçlanma civcivlerde görülür. Kanatlıların yaşı arttıkça hastalıktan kaynaklanan

böbrek lezyonları, yumurtalık hasarları ve ölüm azalır (Cavanagh 2003). IB virusu hasta kanatlıların öksürük veya hapşırık sırasında çıkardıkları damlacıklarla solunum yoluyla yayılır. Kümes içinde hastalığın yayılması çok hızlıdır. Çiftlikten çiftliğe bulaşma, insanlardan bulaşma, ekipman ve taşıtlarla taşımayla ilgilidir. Bulaşmada insanlarda önem taşıırken vektörlerin rolü büyüktür. İnfekte tavuk dışkısı ile de virus çevreye yayılabilir. İnfeksiyondan kurtulan hayvanlar 1 ay süreyle IB virusu saçarlar. Virus yumurta yoluyla bulaşmaz (Butcher 2002, Esendal 2002).

IB ile ilgili lezyonlar solunum sisteminin üst kısmında hafiften ortaya çıkan bir yangıyı içermektedir (Butcher 2002). Yetişkin tavuklarda trakeada seröz veya kataral bir eksudat bulunur. Histopatolojik olarak, trakea ve bronşlarda epitelyumda hiperplazi ve metaplazi ile birlikte silia kaybı şekillenir (Esendal 2002).

Böbrek hasarı nefrotropik suşları içeren infeksiyonları izlerse önemli olabilir. Etkilenen kanatlıların böbrekleri solgun ve şiş olabilir. Ürat birikmeleri etkilenen üreterlerde ve böbrek hücrelerinde gözlemlenebilir (Butcher 2002, Esendal 2002).

1.1.8. Tanım ve tarihçe

İnfeksiyöz bronşit tavuklardaki akut, çok bulaşıcı ve hırıltılı solunum, öksürük ve burun akıntısı ile karakterize bir viral hastalıktır. Hastalık ayrıca böbrekleri etkileyebilir ve yumurtlayan sürülerde yumurta verimi ve kalitesini de düşürebilir. Genç hayvanlarda solunum ya da böbreklerle ilgili etkileri nedeniyle mortalite görülebilir.

Düşük ağırlık artışı ve yemden yararlanmaya neden olduğu için önemli ekonomik sonuçlara yol açmaktadır ve sıklıkla miks infeksiyonların neden olduğu aerosakkulitis nedeniyle broilerde et kalitesini bozmaktadır. Verim düşüklüğü açısından neden olduğu zararlar genellikle mortaliteden daha önemlidir.

İnfeksiyöz bronşit, ilk kez 1930 yılında ABD'de Güney Dakota eyaletinde görülmüştür. 1931 yılında, Hawk ve Schalk (Fabricant 2000) hastalığın klinik bulguları ilk laboratuvar çalışmaları hakkında ilk raporu yayınlamışlardır. Başlangıçta temelde genç

hayvanların hastalığı olduğu düşünülse de daha sonra piliç ve yumurtlayan sürülerde de görüldüğü saptanmıştır.

1.1.9. Etiyoloji

İnfeksiyöz bronşit virusu pleomorfiktir ancak genellikle yuvarlaktır. Çapı yaklaşık 120 nm olan bir zarfı vardır ve üzerinde topuz şeklinde 20 nm boyunda dikenler bulunmaktadır. Kendiliğinden parçalanan partiküllerden salınan Ribonükleoprotein (RNP) yapıları negative boyama ile değil ancak gölgelendirme yoluyla görülebilirler. Bazen, çoğunluğu RNP çapı sadece 1-2 nm olan lifler halinde ancak 10-15 nm çapında sarılmış yapılar olarak görülebilmektedir (Davies 1981).

İnfeksiyöz bronşit virusu 2 cinsten oluşan Coronaviridae ailesine dahildir. (Cavanagh 2000). Bu ailede, hindilerin coronavirusu ve memelilerde bulunan en az 9 tür ile birlikte Coronavirus cinsi içindedir. İnfeksiyöz bronşit virusu hindilerin corona virusundan protein sekansı ve antijenite yönünden büyük oranda farklılık gösterir.

HI testleri ile de suş sınıflandırılması araştırılmıştır. Bir kez maruz kalma ve infeksiyon gelişmesini takiben oluşan HI antikor yanıtı yüksek düzeyde suş spesifik olabilmektedir. Erken yanıtın spesifikliğı ve sınırlı çapraz reaktivite, HI ile izolatların serotiplendirilmesinin temelini oluşturmaktadır (King 1984). Bunun tersine Cook ve arkadaşları (1987) HI testini VN testi ile karşılaştırmışlar ve HI testinin yüksek ve değışken çapraz reaksiyonlara maruz kaldığını ve IBV suşlarının VN testi ile daha net ayırdedildikleri sonucuna varmışlardır.

Monoklonal antikorlar Massachusetts, Connecticut 46, Arkansas 99, (Karaca, Naqi, Gelb 1992)'in dahil olduğı Kuzey Amerika kökenli ve Avrupa kökenli D274 ve D1466 (Kant ve ark 1992, Koch ve ark 1990) ve Avustralya izolatlar (Ignjatovic ve ark 1991) gibi belirli serotiplere karşı geliştirilmiştir.

Beaudette suşu için tüm genomun ve pek çok serotipi temsil eden daha birçok IBV izolatının tüm yapısal protein genlerinin sekansı saptanmıştır (Bournsnell ve ark 1987). Serotipi belirleyen ve koruyucu immunitiyi indüklediğine inanılan spike glikoproteininin S1 altünitesini kodlayan gen, en sık sekanslanan genidir. Birçok S1 protein altünite geni sekansı yayınlanmış ve nükleotid data bankalarında yer almışlardır (Wang ve ark 1994).

1.1.10. Patogenezis, Epizootiyoloji ve Bulgular

İnfeksiyöz bronşit virusu solunum sistemi dokularında, intestinal sistemde, böbreklerde ve ovidukta replike olabilmektedir. Yaygın olarak IBV suşları hangi organdan köken alırlarsa alsınlar tavuklarda solunum sistemini hızla infekte ederler ve trakeada tipik lezyonlar oluştururlar. Bir çok vakada, eğer hayvanlar çok genç değil ise, sekonder bakteriyel infeksiyonlardan dolayı aerosakkülitis gelişmezse veya solunum fazını takiben böbrekler etkilenmezse, önemli düzeyde bir düzelme görülmektedir. Ancak IBV'nin virulent suşları sahada mortaliteye neden olan ciddi solunum sistemi infeksiyonuna yol açabilmektedir.

Hastalığa karşı duyarlılık tavuk ırklarına göre değişmekle birlikte tavuklar IBV ile doğal olarak infekte olabilen ve virusun hastalığa yol açtığı tek kanatlı türüdür. Sülünlerden bronşit virusu izole edilmiş olmakla birlikte ve solunum belirtileri ile yumurtlama kalitesi ve veriminde düşme ve özellikle genç bireylerde solunum güçlüğü (Gough ve ark 1996) gözlenmiştir.

Hindilerde IBV'nin deneysel olarak aerosol tarzındaki inokülasyonu hiçbir klinik yanıtı yol açmamıştır ancak intravenöz inokülasyon 48 saate kadar değişen sürelerde viremiye yol açabilmektedir (Gelb ve ark 1987).

Her yaşta tavuklar duyarlıdır ancak çok gençlerde; civcivlerde mortalite ile ciddi seyir gösterir (Hofstad 1984). Yaş büyüdükçe hayvanlar nefritojenik etkilere, ovidukt lezyonlarına ve hastalıktan kaynaklanan mortaliteye karşı daha dirençli olmaktadır (Albassam ve ark 1986).

İnfeksiyöz bronşit sürüdeki hayvanlar arasında hızla yayılmaktadır. İnfekte tavukların bulunduğu ortama alınan duyarlı hayvanlar genellikle 48 saat içinde hastalık belirtisi gösterirler. Aerosol yolla maruz kalan tavuklardan 24 saatten itibaren 7 gün boyunca virus, trakea, akciğerler, böbrekler ve Bursa'dan izole edilebilir (Hofstad ve Yoder 1996). Virus izolasyon sıklığı süre uzadıkça azalmakta ve infekte eden suşa bağlı olarak değişmektedir ancak hastalıktan sonraki 14. haftada sekal tonsillerden ve 20. haftada da gaitadan IBV izole edilmiştir (Alexander ve Gough 1997).

Böbrekler, kalıcı infeksiyon olan organlardan birisi olmakla birlikte IBV infeksiyonunun sürerliği tam belirlenememiştir (Dhinaker ve Jones 1997). İnkübasyon süresi inokülasyon yolu ve doza bağlı olarak 18-36 saattir. Düzenli olarak sulandırılmamış infekte yumurta sıvısına aerosol yolla maruz kalan tavuklar 24 saat içinde trakeal ral sergilerler. Doğal olarak yayılma 36 saat veya daha fazla zamana gerek göstermektedir (Hofstad 1984).

IB'nin karakteristik bulguları; soluksuz kalmak, öksürük, aksırık, trakeal raller ve burun akıntısıdır. Gözlerin ıslak olması ve sinüslerin şişmesine de rastlanabilmektedir. Hayvanlar deprese görülür ve ısı kaynağının altına doluşurlar ve yem tüketimi ile ağırlık artışı önemli derecede düşmüştür. 6 haftalıktan büyüklerde ve erişkinlerde bulgular civcivlerdekine benzer ancak burun akıntısı daha nadir görülür ve hayvanlar dikkatle incelenmeden veya normalde sessiz olmaları gereken gece izlenmezlerse hastalık gözden kaçırılabilir (Hofstad 1984).

Nefropatik virüslardan birisi ile infekte olmuş olan broilerde tipik solunum bulguları düzelmiş gibi görülebilir ancak depresyon ve tüy kabarması, ıslak dışkılama ve su tüketiminde artış gözlenir (Saif 2003). Yumurtacılar da ise solunum bulguları yanı sıra yumurta verimi ve kalitesinde düşme görülür. Ancak IBV solunum bulgusu olmayan ancak soluk kabuklu yumurta üretilmesi ve hafif üretim düşüklüğü olan yumurtacı ve damızlık sürülerde kloaka svabları ve sekal toksil numunelerinde izole edilmiştir (Cook ve ark 1987). Yumurta verimi düşmesinin şiddeti yumurtlama dönemine ve virus suşuna bağlı olarak değişmektedir (Cook ve ark 1986, Eck 1983). Verimin infeksiyon öncesine geri dönmesi için 6-8 hafta gerekmektedir ancak bir çok olayda hiçbir zaman geri dönüş olmamaktadır. Üretim düşmesine ek olarak kabul edilmeyen yumurta sayısı artmakta, kuluçkadan çıkım düşmekte ve yumuşak kabuklu, şekilsiz ve yuvarlak yumurta üretilmektedir.

Bir sürüdeki tüm hayvanlar infekte olmaktadır ancak mortalite infekte ajanın serotipine, hayvanın yaşına, immunité durumuna, soğuk veya sekonder bakteriyel infeksiyon gibi stres faktörlerine göre değişmektedir. Mortalite 6 haftadan büyük hayvanlarda % 25 hatta daha da yüksek olabilmekte daha büyüklerde ise genellikle ihmal edilebilir oranlarda olmaktadır. Urolitiaziste mortalite haftada % 0.5-1.0 arasındadır (Breslin ve ark 1999, Chubb ve ark 1987).

İnfekte hayvanlarda trakeada, nazal pasajlar ve sinüslerde seröz,kataral veya kazeöz eksudat bulunur. Hava keseleri puslu görünümlü veya sarımsı kazeöz eksudatla dolu olabilir. Ölen hayvanların trakeasının sonunda veya bronşlarında kazeöz bir tıkaca da rastlanabilmektedir. Büyük bronşlar çevresinde küçük pnömonili alanlar bulunabilmektedir (Hofstad 1984). Nefropatik infeksiyonlar soluk renkli şişmiş ve tübüleri ve üreterleri üratla gerginleşmiş böbreklere neden olmaktadır. Oviduktteki kalıcı lezyonlar 1 günlük civcivlerde IBV infeksiyonunun sonucu olabilmekte ve yumurta veriminin düşmesinin nedeni olabilmektedir. Oviduktun orta üçte biri daha şiddetli etkilenmiş ve hipoglanduler durumdadır (Hofstad 1984).

Trakea mukozası mukuslu ve çevreleyen epitel hücrelerinde soyulma ve yuvarlak şekil alma ve silier kayıp görülmektedir. İnfeksiyondan 18 saat sonra heterofil ve lenfosit infiltrasyonu görülür. Epitelin rejenerasyonu 48 saat içinde başlar. Hava keseleri de etkilenmiş ise 24 saat içinde ödem, epitel hücre dökülmesi ve bir miktar fibrinöz eksudat görülür (Riddell 1987).

IB'nin yol açtığı böbrek lezyonları başlıca interstisyel nefritis bulgularıdır. Virus granuler dejenerasyon,vaküolasyon ve tübüler epitelde döküntüye neden olmaktadır. Erişkin tavuklardaki deneysel IB infeksiyonu ağırlık azalması ve epitel hücrelerden silia kaybı, tübüler bezlerde genişleme, ödem ve oviduktun tüm bölgelerinde ödem ve fibroplaziye neden olmaktadır (Riddell 1987).

1.1.11. Immunité

1.1.11.1. Aktif bağıklık

IBV hastalığına karşı tavuklarda hem ırka hem de suşa bağılı genetik direnç bildirilmiştir (Cook ve ark 1992, Otsuki ve ark 1990, Bumstead ve ark 1989, Smith ve ark 1985). Doğal infeksiyonu yeni geçirmiş olan tavuklar aynı virusla yapılan çalençta direnç göstermektedirler (homolog korunma) ancak diğere IBV suşları ile olan infeksiyonlara karşı dirençleri (heterolog korunma) değışkendir. IB hastalığına karşı bağııklığın mekanizması ve süresi hakkındaki çalışmalar, tanımlanmış olan multipl serotipler, suşlar arasında görülen farklılığı gibi faktörler tarafından karmaşıklaşmaktadır (Cook ve ark 1998, Pensaert ve Lambrechst 1994, Lambrechts ve ark 1993). Bir IB infeksiyonundan veya aşılardan sonra respiratör korunma 3-4 hafta sonra başlar ve farklı yollarla gerçekleşir. Birçok vakada IBV deneysel infeksiyonu solunum yoluyla uygulanır. Deneysel infeksiyondan 4-5 gün sonra IBV nin trakeadan izole edilememesi immunitenin için tek kriter olarak (Hofstad 1981) kullanılmaktadır. Bir başka yöntem de, aşılanmış hayvanların IBV virus ve *E. coli* karışımı ile çalençteki mortaliteden korumasının değılendirilmesidir. Bu yöntem trakeal immunitenin diğere değılendirmelerine göre daha çok aşya bağılı çapraz koruma bulgusuna işaret etmektedir (Cook 1986).

VN ve HI antikorları indüklenmesinden başlıca S1 glikopolipeptidin sorumlu olduğuna ve koruyucu immunitenin indüksiyonunda temel rol oynadığına (Ignjatovic ve Galli 1991) dair deliller bulunmakla birlikte bu klinik hastalığa karşı korunmanın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Lokal antikorların reinfeksiyonu önlemedeki rolü de belirsizdir. Nazal akıntılar içine lokal olarak nötrale edici antikor sentezlenmesinin reinfeksiyonu önlediğı ve lokal yanıtı Harderian bezinin de katkı yaptığı konusunda işaretler bulunmaktadır.

1.1.11.2. Pasif bağıklık

Damızlık sürününün aşılandığı aşıyla kullanılan aşı aynı tipte ise aşının etkinliği ve aşı reaksiyonunun şiddeti maternal antikorlar tarafından azaltılabilmektedir (Klieve ve Cumming, 1988a, Klieve ve Cumming 1988b). Siklofosamid uygulanmış veya in ovo bursektomize edilmiş ve sonra IBV ye maruz kalmış hayvanlarda görüldüğü gibi antikorlar hastalığa direncin tek kaynağı olarak gözükmemektedir (Cook ve ark 1991). Bu çalışmalarda hiç antikor saptanamamasına rağmen hayvanlar IBV deneysel infeksiyonuna direnç

göstermişlerdir. Buna rağmen maternal olarak immun günlük ticari civcivlere rutin olarak aşılama uygulanmaktadır.

1.1.12. Teşhis

IBV'nin teşhisi klinik geçmiş, lezyonlar, serokonversiyon veya IBV antikor titrelerinin yükselmesi, bir dizi antikor bazlı metodla IBV antijenlerinin saptanması, virus izolasyonu ve daha yeni olarak ta IBV RNA'sının saptanması temeline dayanmaktadır. IBV suşlarının gösterdiği geniş antijenik çeşitlilik ve farklı serotipler için farklı aşuların varlığından dolayı mümkün ise IBV serotipi saptanmalıdır. IB virusu veya indüklediği antikorların saptanması için pek çok yaklaşım De Wit (2000) tarafından açıklanmış ve karşılaştırılmıştır.

1.1.12.1. Seroloji

Çok sayıdaki serotipler ve tanımlananlar arasındaki antijenik varyasyonlar uygun bir test metodu seçimini ve test sonuçlarının analizini karmaşıklştırmaktadır. Tüm IBV serotiplerinde ortak epitoplara (grup-spesifik antijenler) bulunmaktadır. IBV'ler elbette aynı zamanda tip spesifik antikorlar da indüklemektedirler. ELISA, immunofloresans ve immunodiffüzyon testleri hem grup hem de tip spesifik antijenleri bağlamaktadırlar. Bu çift bağlama özelliğinden dolayı bu testlerle IBV tipleri ayırdedilememektedir.

Rutin seroloji genellikle ya VN, HI ile ya da ELISA ile yapılmaktadır (De Witt 2000). IBV ELISA testleri grup-spesifiktir (De Witt ve ark 1997). Bu metod yaygın olarak kullanılmakta ve işlemleri gerçekleştirmekte kullanılan kitleri ticari olarak bulunmaktadır. ELISA, IBV enfeksiyonu antikorlarını, VN ve HI daha önce, enfeksiyondan 1 hafta sonra saptayabilmektedir (De Wit ve ark 1998a; De Wit ve ark 1997; Marquart ve ark 1981; Mockett ve Darbyshire 1981). İki serum numunesi gerekmektedir; birincisi ilk enfeksiyon bulgularının görülmesinde diğeri ise 1 hafta veya daha sonra alınır; ilk numune almanın gecikmesi serokonversiyonun saptanmasını önleyebilmektedir. IBV enfeksiyonundan hemen sonra ve geçici olarak IgM indüklenmektedir ve bu nedenle IBV-spesifik IgM'nin saptanması

yeni infeksiyon için bir gösterge oluşturmaktadır (De Wit ve ark 1998). Genellikle serotipler arasında çapraz reaksiyonlar olmakla birlikte VN ve özellikle HI testi, IBV antikorları için tip–spesifik kabul edilmektedirler. Tek bir infeksiyondan veya aşılardan sonra toplanan serumlar değil serotip-spesifik olmak, suş spesifik bile olabilmektedir. Bu da aşı yanıtının izlenmesi için HI testinin etkin kullanımını azaltmaktadır (De Witt ve ark 1997, Karaca ve Naqi 1993, Gelb ve ark 1987). Örneğin her iki virusun da aynı serotipten olmasına rağmen (VN testleri ile belirlendiği gibi), H120 ile yapılan aşılardan sonra antikor saptanması için uygulanan ve M41'in antijen olarak kullanıldığı HI testi zayıf yanıt vermektedir. (Brown ve ark 1988).

Sahada çok rastlandığı gibi IB'ye karşı daha önce aşılanmış olan broylerden bir saha veya deneysel infeksiyondan sonra alınan serumlarda ve daha önce birkaç kez infeksiyonu geçirmiş ve ayrıca birkaç kere de aşılama yapılmış yumurtacı tip tavuklarda toplanan serumlarda çapraz reaksiyonlar daha da belirgin olmaktadır. HI testi, düşük maliyetli olmakla birlikte, basit araç gereç ve hızlı olması nedeniyle de rutin teşhiste kullanışlı bir yöntemdir ancak sınırlılıkları göz önünde bulundurulmalı ve gerektiğinde kullanmak üzere alternatif teknikler de el altında bulundurulmalıdır (De Witt 2000).

1.1.13. Ayırıcı tanı

İnfeksiyöz bronşit, Newcastle (ND), laringotrakeitis ve İnfeksiyöz Koriza gibi akut solunum sistemi infeksiyonlarına benzerlik göstermektedir. ND genellikle IB den daha şiddetli seyretmektedir. ND'nin virulent suşları ile olan infeksiyonlarda sinirsel belirtiler ve yumurtalayan sürülerde daha yüksek oranlarda verim düşüklüğü gözlenebilmektedir. Laringotrakeitis bir sürede daha yavaş yayılma göstermektedir ancak solunumla ilgili belirtiler IB'den daha şiddetli olmaktadır. İnfeksiyöz koriza ise (IB'de nadir görülen) yüzdeki şişkinlik ile ayırt edilebilmektedir. Verim düşmeleri ve yumurta şekil bozuklukları EDS belirtilerine benzemekle birlikte EDS'de yumurtanın iç kalitesi bozulmamaktadır (Eck 1983).

1.1.14. Korunma ve kontrol

1.7.2.1. Aşılama

IB immunizasyonu için hem canlı hem de ölü aşılar kullanılmaktadır. Canlı aşılar broylerde ve ilk aşılama olarak damızlık ve yumurtacılar da uygulanmaktadır. İnaktif yağlı emülsiyonlu aşılar (Box ve ark 1988) damızlık ve yumurtacılar da yumurtalamanın başlama noktasında kullanılmaktadır. Aşılar da kullanılan İnfeksiyöz bronşit virus suşları sıklıkla embriyolu tavuk yumurtasında seri halde pasajlar yapılarak attenüe edilmektedir (Klieve ve Cumming 1988). İmmunojenitenin düşmemesi için daha ileri pasajlamaktan kaçınılmaktadır. Bu tip attenüasyonun derecesi ve stabilitesi farklı aşılar arasında değışkenlik gösterebilmektedir. Bazı aşıların tavuklar da geri pasajlanması ile virulansın artabileceği şüphesi (Hopkins ve Yoder 1986) bir sürüde sıklık infeksiyon varlığında böyle aşıların artırma olasılığını düşündürmektedir.

Massachusetts serotipindeki aşılar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tip bir virus solunum belirtileri olan ve Massachusetts tipi bir aşı ile aşılanmış olan bir sürüden izole edilirse bunun aşı virusunun tekrar izole edildiği ve hastalıktan başka tip bir serotipin sorumlu olduğunu akla getirmektedir. Ancak Massachusetts virusunun virulansının yükselebileceği ve sonuçta da aşının indüklediği immun yanıtın kırılabilmesi de söz konusu olabilmektedir.

Aşı suşları bir bölge ya da ülkedeki saha antijenik spektrumunu temsil edecek şekilde seçilmektedir. Birçok ülkeden başlangıçta izole edilen serotip olması nedeniyle Massachusetts (M41) suşu, H120 ve diğer Massachusetts serotipi aşıları dünyada yaygındır. Yeni serotipler izole edildikçe, bunlar da aşılar da kullanılabilir. Bazı Avrupa ülkelerinde H120'ye ek olarak D274, D1466 ve 4/91 (793/B) suşları da kullanılmaktadır (Klieve ve Cumming 1988, Wadey ve Faragher 1981). Sahada IB ve ND aşılarının kombine edilmesi sıklıkla uygulanmaktadır.

Bireysel olarak canlı aşıların uygulanması göz damlası, intratakeal veya intranasal olarak yapılmaktadır. Sürü uygulamalarında ise kaba sprey, aerosol olarak veya içme suyu içinde uygulanmaktadır (Andrade ve ark 1983, Ratanasethakul ve Cumming 1983). Sürü uygulamaları kolaylık yönünden çok tercih edilmekle birlikte birörnek uygulama konusunda sorunlar olabilmekte ve aerosol tarz uygulama da da ciddi solunum reaksiyonları gelişebilmektedir. Spreyleme cihazlarına sürekli kontrol gerekmektedir. İçme suyuna bakteri ve mantarlar üremelerine karşı katılan kimyasalların içme suyu içinde uygulanan aşıları inaktive edilmesi olasılığı bulunmaktadır. Aşılamadan önce bu tip maddelerin devreden

çıkartılması ve suya 1:400 oranında yağı alınmış süttezu karıştırılarak aşı uygulaması süresince aşı titresinin sabit tutulması sağlanmalıdır.

İnaktif aşılar bireysel olarak enjekte edilmektedir. Bu aşılar genellikle canlı bir aşı ile yapılan ilk uygulamadan sonra ve yumurtlamanın başlamasından birkaç hafta önce uygulanmaktadır. Başka inaktif aşilarla kombine olarak da uygulanabilmektedirler.

Broyler genellikle kuluçkada (1 günlük yaşta) canlı IB aşısı ile aşılanırlar. Çevre koşullarına bağlı olarak aynı veya farklı serotipte bir aşı ile ilkinden yaklaşık 10 gün sonra (10 günlük yaşta) ikinci aşılama yapılabilmektedir. Broyler anaçları veya ticari yumurtacılara genellikle 2-3 haftalık yaşta ilk IB aşı inokülasyonu yapılır. Aşının zamanlaması civcivlerdeki maternal antikor düzeylerine ve kullanılan aşılama metoduna göre değişkenlik göstermektedir. Daha sonraki aşılama da yine sürü sevk idaresine ve diğer sürü hastalıklarına bağlı olarak 7-12. veya 16-18. haftalarda ve yumurtlama başlangıcında yapılmaktadır.

1.2.3. Tedavi

IB için spesifik bir tedavi bulunmamaktadır. Soğuk stresinin ortadan kaldırmak için ısının yükseltilmesi, kümeste sıkışıklığın giderilmesi ve kilo kaybını önlemek için yem tüketiminin sabitlenebilmesi, IB'den kaynaklanacak kayıpları azaltabilmek için sürü sevk idaresi ile ilgili olan önlemlerdir. İkincil bakteriyel infeksiyonlara karşı antibakteriyel kullanılması, içme suyu içinde elektrolit verilmesi akut sodyum, potasyum kayıplarının dolayısıyla da nefritten kaynaklanacak kayıpların önlenmesi için önerilmekte olan yöntemlerdir (Saif 2003).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Araştırma Materyali

Araştırmamızda broiler üretimi yapan farklı bölgelerde bulunan çiftliklerden toplanan 241 adet kan örneği kullanılmıştır. Araştırma grubunu oluşturacak çiftliklerin en az 10.000 başlık olması hedeflenmiştir. Toplamda 12 çiftlikten 42-45 günlük broilerlerden oluşan bir periyottaki kesim zamanında, kesimhaneden % 0.2 örnekleme esas alınarak çiftlik başına ortalama 20, toplamda 241 örnekleme yapılmıştır. Alınan kan örnekleri soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi rutin teşhis laboratuvarına getirilmiştir. Kan örneklerinin serumları santrifüj yoluyla ayrılarak ELISA testi uygulanıncaya kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

2.1.2. Aşılar ve Aşılama Programı

Çizelge 2.1.2.1. Kullanılan örnekler ve aşılama programı

Sıra No	Bölge / sürü kodu	Numune sayısı	IB* aşısı günü	NDV* aşısı günü
1	Firma 1	19	Yok	0-13-27
2	Firma 2	17	Yok	0-13-27
3	Firma 3	20	Yok	0-13-27
4	Firma 4	19	0	0-14-28
5	Firma 5	17	0	0-14-28
6	Firma 6	19	0	0-14-28
7	Firma 7	20	0	0-14-28
8	Firma 8	19	Yok	0-13-26
9	Firma 9	20	0	0-15-28
10	Firma 10	24	Yok	0-12-25
11	Firma 11	22	0	0-13-25
12	Firma 12	25	0	0-12-25
	TOPLAM serum sayısı	241		

*0. gün NDV aşısı enterotropik türdür ve çıkımda sprey şeklinde uygulanmıştır. IB aşısının suşu ise MA5 suşudur.

2. ve 3. hafta NDV aşısı ise La Sota suşu içeren aşılardır. İçme suyu içinde uygulanmışlardır.

Yok : IB aşısı uygulanmayanlardır.

2.2.3. ELISA kitleri

BIOCHEK firmasına ait BioChek “Poultry Immunoassays Newcastle Disease Virus Antibody Test Kit®” (Katalog kodu CK 116) ve “Infectious Bronchitis Antibody Test Kit®” (Katalog kodu CK 119) ELISA kitleri kullanılmıştır.

2.3. Yöntem

Serum örnekleri; laboratuvar ortamında ayrı ayrı her iki hastalık için; BIOCHEK firmasına ait BioChek “Poultry Immunoassays Newcastle Disease Virus Antibody Test Kit®” (Katalog kodu CK 116) ve “Infectious Bronchitis Antibody Test Kit®” (Katalog kodu CK 119) ELISA kitleri ile firmanın önerdiği şekilde işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen ELISA sonuçları, aşı etkinliği yönünden değerlendirilmiştir.

2.2.3. Newcastle hastalığı

Kit içinde;

- 1.NDV kaplanmış pleytler (inaktive edilmiş viral antijen),
- 2.Konjugat solusyonu (anti-tavuk: protein stabilizerleri ile tris tamponu içinde alkalin fosfotaz, inert red dye, koruyucu olarak sodyum azid),
- 3.Substrat tabletleri (pNPP tabletleri substrat tamponu ile çözmek üzere), substrat tamponu (enzim ko-faktörleri ile dietanolamin tamponu),
- 4.Stop solusyonu (dietanolamin tamponu içinde sodyum hidroksit),
- 5.Serum örneklerinin sulandırıcısı (protein stabilizerleri ile fosfat tamponu ve koruyucu sodyum azid),
- 6.Yıkama solüsyonu (powdered fosfat buffered saline with Tween),
- 7.Negatif kontrol (Protein stabilizerleri ile fosfat tamponunda SPF serum ve koruyucu sodyum azid),
- 8.Pozitif kontrol (Fosfat tamponunda spesifik NDV antikorları ve koruyucu sodyum azid) hazır olarak bulunmaktadır.

Ayrıca kullanılan diğer laboratuvar malzemeleri ise; hassas pipet ve pipet uçları, 8-12 kanallı pipetler, distile veya deiyonize su, 405 nm filtreli mikrotitre pleyt okuyucusu ve mikrotitre pleyt yıkayıcısıdır.

2.2.1.1. İşlem

1. Tavuk serum örnekleri sulandırıldı (1:500). Kit içinde bulunan negatif kontrol, pozitif kontrol ve sulandırılmış serum örnekleri (100 µl/çukur), inaktive edilmiş NDV antijeni ile kaplanmış mikroplyet çukurlarına ayrı ayrı usulüne uygun olarak eklendi.
2. Pleytlerin A1 ve B1 çukurlarına 100 µl negatif kontrol serumu konuldu. C1 ve D1 çukurlarına 100 µl pozitif kontrol serumu konuldu ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Böylece, NDV antikoru içeren serum örnekleri pleyt çukurundaki NDV antijenlerine bağlanarak antijen-antikor kompleksleri oluşturuldu.
3. Çukurların içerikleri aspire edilerek 4 kez yıkama solüsyonu (her bir çukur için 350µl) ile yıkandı. Pleytler kurutma kâğıtlarına ters çevrilerek fazlalıklar alındı. Böylece, özel yıkama solüsyonu ile pleytin yıkanması sonucunda non spesifik antikolar ve diğer serum proteinleri ortamdaki uzaklaştırılmış oldu.
4. Daha sonra pleytlere 100 µl/çukur olacak şekilde konjugat reajanı uygulandı ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Konjugat reajanı (alkalin fosfat enzimi ile etiketlenmiş anti-chicken IgG) eklenerek orijinal tavuk NDV antikoları bağlanmaktadır.
5. Tekrar her bir çukur 4 kez yıkandı. Bu yıkama işlemi ile işlevi tamamlanmış konjugat ortamdaki uzaklaştırılmış oldu.
6. pNPP (p-Nitrofenil fosfat) formundaki substrat, boya olarak eklendi. Her çukura 100µl substrat eklenerek 15 dakika oda ısısında bekletildi.
7. Reaksiyonu durdurmak için 100µl/çukur olacak şekilde durdurma solüsyonu eklendi. Oluşan sarı renk, serum örneklerindeki antikor miktarına bağlı olarak yoğunluk göstermektedir.

Sonuçlar açısından testin geçerli olması için ortalama negatif kontrol absorbansı 0,3'ün altında olmalı ve ortalama negatif kontrol ile ortalama pozitif kontrol farkı 0,15'ten büyük olmalıdır.

Serum numunelerindeki antikorların rölatif miktarları, pozitif kontrol referans S/P (örneğin pozitif oranı) alınarak hesaplanmaktadır.

NDV pozitif kontrolü tavuk serumundaki NDV'ye karşı antikor miktarlarının önemli miktarını temsil edecek şekilde standardize edilmiştir. 0.35 veya daha fazla (S/P) oranına sahip anti-IBV antikorlu içeren numuneler pozitif olarak değerlendirilmektedir.

Laboratuardaki sıcaklık farkları daha düşük veya yüksek absorbans değerine yol açmakla birlikte test numuneleri kontrol numuneleri ile ilişkili olduğundan dolayı test yine de geçerli olmaktadır.

S/P oranının hesaplanması:

$$\frac{\text{Test örneklerinin ortalaması-Negatif kontrolün ortalaması}}{\text{Pozitif kontrolün ortalaması-Negatif kontrolün ortalaması}} = \text{S/P}$$

2.2.3.1.1. Antikor titresinin hesaplanması

Aşağıdaki formül 1:500 dilüsyondaki bir örneğin S/P değerinin en yüksek titre oranı ile ilişkisini göstermektedir.

$$\text{Log}_{10} \text{ Titre} = 1,0 * \text{Log} (\text{SP}) + 3,52$$

$$\text{Antilog} = \text{Titre}$$

S/P değeri	Titre	Antikor Durumu
0,349 veya daha düşük	1158 veya daha düşük	Negatif
0,350 veya daha büyük	1159 veya daha yüksek	Pozitif

Tüm bu S/P, titre ve genel sürü profili değerleri kit üreten firmaların özel bilgisayar programları tarafından otomatik olarak hesaplanmıştır.

2.2.4. İnfeksiyöz Bronşitis

İnfeksiyöz bronşitis için uygulanan yöntem de tam olarak yukarıda NDV için izlenen yöntemdir. Ancak elbette kullanılan kit Biochek ELISA IB kitidir ve pleytler bu kez inaktive edilmiş IB antijeni ile kaplanmıştır. Pozitif kontrol de IB için spesifiktir. Ancak hesaplamada kullanılan bazı detaylar farklılık göstermektedir.

IBV pozitif kontrolü tavuk serumundaki IBV'ye karşı antikor miktarlarının önemli miktarını temsil edecek şekilde standardize edilmiştir.

0.2 veya daha fazla (S/P) oranına sahip anti-IBV antikoru içeren numuneler pozitif olarak değerlendirilmektedir.

2.2.4.1. Antikor titresinin hesaplanması

Aşağıdaki eşitlik bir numunenin 1:500 lük sulandırmada son nokta titresine kadar olan S/P oranına ilişkilidir.

$$\text{Log10 Titresi} = 1.0 * (\log_{10} \text{S/P}) + 3.62$$

$$\text{Antilog} = \text{Titre}$$

S / P değeri	Titre	Antikor durumu
0.199 veya daha az	833 veya daha düşük	Negatif
0.200 veya daha fazla	834 veya daha yüksek	Pozitif

S/P değerini, titreleri hesaplamak ve genel sürü profilini çıkartmak için IBV kiti ile birlikte kullanılacak bilgisayar programı mevcuttur.

2.2.2.2. Sonuçların yorumlanması kriterleri

Titre değerleri, hayvanın yaşı ve tipi, aşınnın tipi, aşılama programı ve diğer yetiştirme programlarına göre değişebilmektedir. Bu nedenle değişik şartlar altında, farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Çalışmamızda sonuçlar aşağıda görülen Çizelge 2.2.2.1.'e göre değerlendirilmiştir.

Çizelge 2.2.2.1. Aşı tipi, kullanılan suşlar ve ortalama titre değerleri

TEST	AŞI TİPİ	KULLANILAN SUŞ	İŞLEMDEKİ ORTALAMA TİTRE ARALIĞI	İNFEKSİYON ŞÜPHELİ TİTRE
IBV	Canlı, 1x	(H120)	800-1500	>3000
	Canlı, 1x	(MA5, IB Primer)	1000-2000	>4000
	Canlı, 2x	(MA5, IB Primer)	2000-4000	>6000
	Canlı, 2x	(H120 + 4/91)	3000-6000	>9000
NDV	Canlı, 2x içme suyu	(Clone 30, NDV, La Sota)	2000-5000	
	Canlı, 2x sprey	(Clone 30, NDV, La Sota)	4000-8000	
	Canlı , 3x içme suyu	(Clone 30, NDV, La Sota)	9000-10000	

3. BULGULAR

Materyali oluşturan çiftliklerden toplanan 241 adet kan serumunun indirekt ELISA yöntemi ile antikor titresini sonuçları aşağıdaki gibi bulunmuştur. CV olarak gösterilen değer, antikor titre değerlerinin sürü içindeki homojenitesini göstermektedir. Hesaplanan CV değeri ne kadar küçükse sürü antikor titre değerleri açısından o kadar homojendir ya da değer ne kadar büyükse sürü antikor titre değerleri o kadar heterojendir. Biz değerlendirmemizde uygun % CV değeri 45 olarak kabul edilmiştir.

3.1 ND hastalığına ait bulgular

Çizelge 3.1.1. Newcastle hastalığı için ELISA titre ve %CV değerleri (Dilüsyon 1:500)

Tarih	Numune alınan sürü	Seru m adedi	NDV ort. Titre	% CV	Yorum
-------	--------------------------	--------------------	----------------------	---------	-------

15/09/20 09	Firma 1	19	10507	49	Titre yeterli – CV normal
15/09/20 09	Firma 2	17	9771	62	Titre yeterli - CV yüksek /aşılama sorunu
14/09/20 09	Firma 3	20	10454	50	Titre yeterli - CV normal
15/09/20 09	Firma 4	19	7346	63	Titre düşük - CV yüksek/ aşılama sorunu
15/09/20 09	Firma 5	17	4987	78	Titre düşük – CV yüksek /aşılama sorunu
15/09/20 09	Firma 6	19	6876	81	Titre düşük – CV yüksek /aşılama sorunu
15/09/20 09	Firma 7	20	3382	75	Titre düşük – CV yüksek /aşılama sorunu
04/08/20 09	Firma 8	19	10169	73	Titre yeterli –CV yüksek/aşılama sorunu
16/09/20 09	Firma 9	20	9967	75	Titre yeterli – CV yüksek/ aşılama sorunu
07/08/20 09	Firma 10	24	7912	66	Titre düşük- CV yüksek/aşılama sorunu
28/08/20 09	Firma 11	22	8461	61	Titre düşük-CV yüksek/aşılama sorunu
14/09/20 09	Firma 12	25	7722	67	Titre düşük-CV yüksek/aşılama sorunu

Çizelge 3.1.2. Newcastle hastalığı için ELISA titre ve %CV değerleri

Numune alınan sürü	NDV ort. titre	% CV	Yorum
Firma 1	10507	49	Titre yeterli - CV normal
Firma 3	10454	50	Titre yeterli - CV normal
Firma 2	9771	62	Titre yeterli - CV yüksek / aşılama sorunu
Firma 8	10169	73	Titre yeterli - CV yüksek/ aşılama sorunu
Firma 9	9967	75	Titre yeterli - CV yüksek/ aşılama sorunu
Firma 4	7346	63	Titre düşük - CV yüksek/ aşılama sorunu
Firma 5	4987	78	Titre düşük - CV yüksek / aşılama sorunu
Firma 6	6876	81	Titre düşük - CV yüksek / aşılama sorunu
Firma 7	3382	75	Titre düşük - CV yüksek / aşılama sorunu
Firma 10	7912	66	Titre düşük - CV yüksek/ aşılama sorunu
Firma 11	8461	61	Titre düşük - CV yüksek/ aşılama sorunu
Firma 12	7722	67	Titre düşük - CV yüksek/ aşılama sorunu

Bölgedeki yüksek infeksiyon riski nedeniyle Newcastle aşılmasının broilerde üç canlı aşı uygulanması şeklinde yapıldığı göz önüne alınarak değerlendirilmiştir. Newcastle hastalığı ile ilgili olarak saptanan antikör titrelerinde çalışma dahilindeki 12 sürüden sadece ikisinde (Firma 1 ve Firma 3'e ait sürülerde) aşılama sonrası beklenen titre (10507, 10454) ve uygun % CV (49, 50) saptanmıştır. Bunun dışında kalan 10 sürünün 7'sinden elde edilen antikör titrelerinin (7346, 4987, 6876, 3382, 7912, 8461 ve 7722) düşük ve % CV değerlerinin (63, 78, 81, 75, 66, 61, 67) yüksek olduğu görülmekte ve bundan dolayı da aşılama ile ilgili sorunların mevcut olduğu sonucuna varılabilmektedir. Bununla beraber 10 sürünün 3'ünden elde edilen antikör titrelerinin (9771, 10169, 9967) yüksek olmasına rağmen % CV değerlerinin de (sırasıyla 62, 73, 75) yüksek olmasından dolayı aşılama uygulaması ile ilgili sorunların bulunduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlara göre, çalışmamıza dahil olan işletmelerde, rutin yapılan aşılama büyük bir kısmında beklenen ortalama sürü homojen

antikor titrelerine ulaşılamadığı ve bu nedenle de infeksiyon riskinin yüksek olduğu sonucunda varılabilir.

3.2 IB hastalığına ait bulgular

Çizelge 3.2.1. İnfeksiyöz bronşit için ELISA titre ve CV değerleri (Dilüsyon 1:500)

Tarih	Numune alınan sürü	Serum adedi	IBV ort. Titre	% CV	Yorum
15/09/2009	Firma 1	19	2859	70	Aşı yok-Titre yüksek - CV yüksek /Etkilenmiş
15/09/2009	Firma 2	17	403	81	Aşı yok Titre düşük /İnfeksiyon şüphesi yok.
14/09/2009	Firma 3	20	330	44	Aşı yok – Titre düşük / İnfeksiyon şüphesi yok
15/09/2009	Firma 4	19	2477	43	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
15/09/2009	Firma 5	17	3883	49	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
15/09/2009	Firma 6	19	3987	42	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
15/09/2009	Firma 7	20	3876	42	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
04/08/2009	Firma 8	19	2809	79	Aşı yok- Titre yüksek - CV yüksek /Etkilenmiş
16/09/2009	Firma 9	20	2538	55	Titre yeterli - CV yüksek/ aşılama sorunu
07.08.2009	Firma 10	24	1269	57	Aşı yok-Titre yüksek- CV yüksek/ Etkilenmiş
28/08/2009	Firma 11	22	1152	52	Titre yeterli / CV yeterli /Normal
14/09/2009	Firma 12	25	792	85	Titre düşük-CV yüksek / aşılama sorunu

Çizelge 3.2.2. İnfeksiyöz bronşit hastalığı için ELISA titre ve CV değerleri

Numune alınan sürü	IBV ort. titre	% CV	Yorum
Firma 2	403	81	Aşı yok – Titre düşük / İnfeksiyon şüphesi yok.
Firma 3	330	44	Aşı yok – Titre düşük /İnfeksiyon şüphesi yok
Firma 1	2859	70	Aşı yok -Titre yüksek / İnfeksiyondan etkilenmiş
Firma 8	2809	79	Aşı yok- Titre yüksek/ İnfeksiyondan etkilenmiş
Firma 10	1269	57	Aşı yok-Titre yüksek / İnfeksiyondan etkilenmiş
Firma 4	2477	43	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 5	3883	49	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 6	3987	42	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 7	3876	42	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 11	1152	52	Titre yeterli - CV yeterli / Normal
Firma 9	2538	55	Titre yeterli - CV yüksek / aşılama sorunu
Firma 12	792	85	Titre düşük - CV yüksek / aşılama sorunu

Bu çalışmaya dahil olan sürülerde aşılama programlarının büyük oranda benzer olduğu öğrenilmiştir. Ancak çalışmamıza dahil olan 12 sürüden 5 tanesinde IB hastalığına karşı aşılama uygulanmadığı öğrenilmiştir. Elde edilen antikor titrelerine göre IB aşılması yapılmamış 5 sürünün 3'ünde (Firma 1, Firma 8 ve Firma 10) antikor titrelerinin yüksek (2859, 2809, 1269) olduğu saptanmıştır. Bunun da infeksiyondan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Aşılanan sürülerden birinde ise (Firma 12) düşük titre (792) ve yüksek CV (% 85) saptanmış ve bu firmada aşılama sorunu olduğu düşünülmüştür. Aşısız olan 2 sürüde (Firma 2 ve Firma 3) ise bulunan antikor titreleri (403 ve 330) ile infeksiyon şüphesinin olmadığı düşünülmüştür. Aşılanan sürülerden 5 tanesinde ise bulunan antikor titreleri (2477, 3883,

3987, 3876 ve 1152) yeterli antikor titresi olarak değerlendirilmiştir. Normal kabul edilen bu antikor titrelerine sahip sürülerde elde edilen % CV'ler (sırasıyla 43, 49, 42, 42, 52) de kabul edilebilir sınırlarda bulunmuştur. Firma 5'e ait olan numunelerdeki ortalama antikor titresi ise 2538 bulunarak yeterli görölmekle birlikte % CV bakımından % 55 ile yüksek CV'ye sahip olduğu saptanmıştır. Bu işletme ile ilgili daha fazla detay bilgi sağlanabilse idi uygun kabul edilen % 45 CV değerinden çok fazla yüksek olmaması nedeniyle bu sonucun uygun olarak da kabul edilebileceği düşünölmektedir. Sonuç olarak aşılanmış olanlardan sadece 5 sürüde aşılamaların beklenen test sonuçlarına uygun bulunduğu görölmektedir.

Araştırmamızın yürütöldüğü firmalara ait ND ve IB aşılama sonuçları karşılaştırıldığında sadece firma 9'un sonuçlarında her iki hastalığa karşı yeterli antikor titresi oluşmasına rağmen CV'lerin yüksek olması nedeniyle normal görölmediği dikkati çekmektedir.

Çizelge 3.2.3. ND ve IB için ELISA sonuçları karşılaştırılması

Firma	ND sonuç	IB sonuç
Firma 1	Titre yeterli – CV yeterli / normal	Aşı yok -Titre yüksek - CV yüksek / Etkilenmiş
Firma 2	Titre yeterli - CV yüksek / aşılama sorunu	Aşı yok – Titre düşük / İnfeksiyon şüphesi yok.
Firma 3	Titre yeterli - CV yeterli/normal	Aşı yok – Titre düşük / İnfeksiyon şüphesi yok
Firma 4	Titre düşük - CV yüksek /aşılama sorunu	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 5	Titre düşük – CV yüksek /aşılama sorunu	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 6	Titre düşük – CV yüksek /aşılama sorunu	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 7	Titre düşük – CV yüksek /aşılama sorunu	Titre yeterli - CV yeterli/ Normal
Firma 8	Titre yeterli –CV yüksek/aşılama sorunu	Aşı yok- Titre yüksek - CV yüksek /Etkilenmiş
Firma 9	Titre yeterli – CV yüksek/aşılama sorunu	Titre yeterli - CV yüksek /aşılama sorunu
Firma 10	Titre düşük- CV yüksek/aşılama sorunu	Aşı yok-Titre yüksek / Etkilenmiş
Firma 11	Titre düşük-CV yüksek/aşılama sorunu	Titre yeterli / CV yeterli /Normal
Firma 12	Titre düşük-CV yüksek/aşılama sorunu	Titre düşük-CV yüksek /aşılama sorunu

Yukarıda görüldüğü gibi her iki hastalık için yapılan rutin aşılamalardan elde edilen sonuçları birarada değerlendirdiğimizde, incelediğimiz 12 firmadan hiçbirisi her iki hastalık yönünden birarada risksiz bulunmamıştır. ND aşılamalarında iki firma dışında tüm firmaların CV yönünden uygun kabul edilen sınırlar dahilinde olmadığı görülmüştür. Bu da elde edilen ortalama antikör titreleri yeterli düzeyde olsa dahi yüksek % CV'ler nedeniyle bu antikör

titrelerinin sürü içindeki homojenliklerinin yeterli olmadığı ve bundan dolayı da aşılama sorunlarının bulunduğu işaret etmektedir. Aşılama sorunu olarak kastedilen; kullanılan aşıya bağlı olabilir veya aşılama uygulamasının gerektiği gibi yapıp yapılmamasına ya da hayvanların immun ve kondüsyon durumuna bağlı olabilmesidir.

4. TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde kanatlı endüstrisindeki en önemli hastalıklardan ikisi, viral infeksiyonlar olan Newcastle ve İnfeksiyöz Bronşitis hastalığıdır. Her iki hastalık ta tavukçuluk endüstrisinde sürülerde ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Diğer bir çok hastalıkta olduğu gibi bu viral infeksiyonların da ortadan kaldırılması için çok sayıda araştırma yapılmış ve günümüzde de sürdürülmektedir. Bu hastalıkların kontrolünde işletmelerde alınacak hijyenik önlemlerle birlikte aşılama programlarında; seçilen aşının tipi, uygulama yolu, uygulayıcının becerisi ve aşılama zamanı gibi faktörler büyük önem taşımaktadır. Günümüzde Newcastle ve İnfeksiyöz bronşit hastalığına karşı aşılar, rutin aşılama programlarına girmiştir. Aşı programları hastalığın bölgedeki durumuna ve sürünün durumuna göre değişkenlik göstermektedir. Yurdumuzda bu iki hastalığa karşı olan aşılarıdaki en çok kullanılan aşı suşları H120, MA5 ve La Sota ve enterotropik suşlardır.

Yapılan aşılama programlarının etkinliğinin saptanması için çeşitli yöntemler mevcuttur. En çok kullanılan 2 yöntem serolojik yöntemler olan Hemaglütinasyon İnhibisyon (HI) ve Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) yöntemidir. Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarla da gösterildiği gibi pratik bir serolojik yöntem olan ELISA yöntemi günümüzde güvenilir bir yöntem olarak da sıklıkla uygulanmaktadır. Biz de bu nedenle çalışmamızda ELISA yöntemini tercih etmiş bulunuyoruz.

Al-Zubeedy (2009) ve arkadaşlarına göre yapılan aşılama programlarının koruma düzeyi; ND ve IB'ye karşı immün sistemin stimülasyonunu artırması ve mortalitede azalma kullanılan aşının tipine olduğu kadar uygulamalar arasındaki sürelerle de ilişkilidir. Ayrıca saha şartları altında yapılan aşılamalardan, çiftlikteki hijyen şartları ve sevk idare yöntemleri de büyük önem taşıdıkları için % 100 koruma beklemek gerçekçi olmayacaktır .

P. McMullin'e göre (1985) aşılamaların sonuçlarının değerlendirilmesinde, aşı etkinliğini etkileyen faktörlerin göz önünde bulundurulması önem taşımaktadır. Bu faktörle temelde aşı, aşı uygulaması ve uygulanan hayvan olarak ayırılabilir. Aşılama etkinliğinin değerlendirilmesinde sahadaki tüm şartların gözönüne alınması gereklidir.

Adair ve arkadaşları (1989), bir çalışmalarında, canlı ND aşısı kullanılarak (çalışmadaki farklı gruplardan birisinde) yaptıkları aşılama sonrasında HI ve ELISA ile aşı etkinliği saptamışlar ve ELISA testinin daha güvenilir sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında deneysel infeksiyonda direnen hayvanların sadece 2/10'unda negatif ELISA titresi saptamışlardır ve deneysel infeksiyon öncesi ortalama ELISA titresini 8.0. olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızın sonucunda her iki hastalığa karşı yapılan uygulamaları bir arada değerlendirdiğimizde, çalışmamıza dahil olan 12 işletmenin hiçbirisinde aynı anda her iki hastalık yönünden beklenen sonuçlar (ELISA antikor titresi ve % CV olarak) saptanamamıştır. Newcastle hastalığı'na karşı aşılamalar sonucunda 12 işletmeden sadece 5 tanesinde elde edilen antikor titreleri yeterli bulunmuş ancak bunlardan da sadece ikisinde kabul edilebilir uygun % CV'ler saptanmıştır. Bundan da 12 firmanın 10 tanesinde aşılama uygulamalarının ELISA testi ile beklenen sonuçları vermediği ve her ne kadar antikor titreleri yüksek olsa da antikor titrelerinin sürü içindeki dağılımının homojen olmaması nedeniyle hastalık riskinin önemli oranda varolduğu düşünülmektedir.

Ak (1990) bir çalışmasında, Newcastle aşılamalarında, broiler işletmelerinde, damızlık ve yumurtacılar da olduğu kadar önem verilmediği bu nedenle de broiler işletmelerinde yapılan serolojik çalışmalarda yetersiz sonuçlar saptandığı belirtilmektedir.

Cardoso ve arkadaşları (2005) 80 kanatlı üzerinde yaptıkları çalışmada hayvanlardan IBV antikorunu saptayamamışlardır. Newcatle hastalığı açısından da düşük titre elde etmişlerdir. Elde edilen titrelerden hayvanların aşılamalardan sonra gerekli korumanın gerçekleşmediği sonucuna varmışlardır. Çalışmamızda olduğu gibi düşük elde edilen titrelerin nedeninin aşılardan arası interferensten kaynaklandığı sonucuna varılmaktadır. Aşılardan arası interferensin nedeninin ise hem ND hem de IB aşılarının ikisinin de uygulamadan sonra solunum sisteminde bulunan

epitelial hücreleri infekte etmesi ve hücre sitoplazmasında replike olması olarak açıklanmıştır (Gelb ve ark 2004).

Montgomery ve arkadaşları (1997) ise yaptıkları çalışmada IBV ve NDV ile kombine aşılanmış hayvanlarda IBV aşılmasının Harder bezinde antijenik uyarım açısından fonksiyon yetersizliği meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Böylelikle Harder bezinde IBV tarafından uyarılan düşük immun yanıtın dolayı anti-NDV antikor seviyeleri de daha sonraki aşılmalarda düşük olarak belirlenebilmektedir.

Cook ve arkadaşları (2001) IBV'nin sadece NDV ile etkileşime girmediğini, diğer Paramyxovirus ve Avian Pneumovirus grupları ile de ilişkide olabileceğini bildirmiştir. İnterferens olayının ayrıca yüksek seviyede stres ve ND saha suşlarına karşı oluşan düşük seviyedeki immun yanıt ile ilgili olabileceği belirlenmiştir (Smith 2002). Çalışmamızda da ND ve IBV aşılmalardan sonra ND antikor titrelerinin yetersiz olarak belirlenmesinde interferens olabileceği göz önünde bulundurulmuştur.

Newcastle hastalığına karşı kullanılan aşı suşu ve aşılama yöntemi ne olursa olsun, hepsindeki esas amaç, duyarlı kanatlı hayvanlara bölgede görülen Newcastle virusunun virulent suşlarına karşı bağışıklık kazandırmak ve bu bağışıklığın devam etmesini sağlamaktır (Arda ve ark 1971). Yapılan araştırmalarda göz veya buruna damla yoluyla, yada kas içi verilen aşılarda içme suyu ile uygulanan aşılarda daha iyi sonuç verdiği ve immun sistemin daha fazla uyarıldığı bildirilmiştir. (Başkaya ve Arda 1970, Arda ve ark 1971, Bell ve ark 1990, Beard ve ark 1993).

Hayvanlarda yeterli derecede immun yanıt elde edilebilmesi ve oluşan antikorların uzun süre koruma sağlayabilmesi için LaSota aşı virusu kullanılarak içme suyu ile yapılan aşılamların, uzun süre yeterli bir koruma düzeyi sağlayamamasından dolayı ikinci aşılmalarda içme suyu yerine başka bir uygulama yoluyla aşılanmanın yapılması gerektiği bildirilmiştir (Gümüşsoy ve Esendal 2003).

Kanatlı hayvanlarda Newcastle hastalığına karşı duyarlılık durumu çeşitli faktörlere karşı değişmektedir. Hastalığın farklı şekilleri, enfeksiyona neden olan virusun virulansı,

dozu, infeksiyon yolu, hayvanın türü, yaşı, sürünün bağışıklık durumu, işletmenin konumu bakım ve hijyen önlemlerinin eksikliği gibi faktörlerdir.

Giamborne (1985), Amerika'da ticari broiler yetiştiricilerinin değişik aşılama programı ve tekniklerini kullandıklarını, işletmelerin yaklaşık % 10'unun 1 günlükken traheal aşılama ile, diğer % 10'unun 7 günlükken içme suyu ile aşılama yaptığı, geriye kalan % 80'inin ise 1 günlük iken kabinet sistemi ile tavuklar üzerine iri partiküllü sprey ile göz yada buruna damlatılarak aşılama yaptıklarını ve aşılama yöntemi ne olursa olsun ikinci aşılamanın 14. ve 21. günler arasında içme suyu ile yada sprey aşılama ile uygulandığını belirtmiştir. Bizim çalışmamızda da ilk önce sprey aşılama ve daha sonra içme suyu ile aşılama yöntemi uygulanmıştır.

Westbury ve arkadaşları (1984), NDV ile immunize edilen tavuklarda hastalık kayıplarının önlenebileceğini, ancak bunu başarmak için aşılama programlarının düzenlenmesinin büyük bir titizlikle yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar canlı ya da inaktif bir aşı tipinin uygulama yöntemini ve maternal antikolar nedeniyle verilme zamanının uygun olarak seçilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Newcastle hastalığının kontrolü ve savaşı için hijyenik önlemlerle birlikte aşılamanın da önemi büyüktür. Her ülke işletmelerinin özelliklerine ve teknolojisine göre aşı programları düzenlenmiştir. Aşı programları çiftliğin bulunduğu bölgede Newcastle hastalığının durumuna, işletme şekline, bölgede hastalığa yol açan virusun virulansına göre düzenlenmelidir (Gordon ve ark 1982).

Yapılan araştırmalarda, mevcut bulunan aşılamanın yeterli bir immun yanıt oluşturduğu belirtilmiştir. Ancak aşılamalardan iyi sonuç elde etmek için bazı nedenlerin en aza indirgenmesi gerektiği vurgulanmıştır (Thayer ve ark 1983). Aşı uygulamasından önce kullanılacak aşının özelliklerinin, aşı titresinin, maternal antikor durumunun, tavuğun yaşının ve uygulanacak aşı yönteminin iyice incelenmesinden sonra aşı uygulamasına geçilmelidir. Ayrıca uygulama yapılacak sürülerde hastalık olmamalıdır.

Villegas ve arkadaşları (1977), aerosol ve spreya aşılama yöntemlerinin çok sayıda tavuğu aşılama olanağı sağladığını, bununla birlikte bu tekniklerin özellikle *Mycoplasma spp.* ve fungal hastalıklar yönünden pozitif hayvanlarda ciddi aşı reaksiyonları oluşturabileceğini ileri sürmüşlerdir. Fakat bizim çalışmamızda bu tip aşı reaksiyonlarına rastlanmamıştır.

İnfeksiyöz bronşit hastalığına karşı ise çalışmamıza katılan 12 işletmeden 5 tanesinde aşılama yapılmamıştır ancak ortamda infeksiyon riskinin bulunduğu, aşısız gruplardan 3 tanesinde etkilenme belirtisi olarak saptanan yüksek titrelerden anlaşılmaktadır. Bu durumda da bu işletmelerde de IB aşılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇ

Çalışmamızda, yurdumuzda bulunan broiler işletmelerinden kesim günü alınan kan serumlarında Newcastle hastalığı ve İnfeksiyöz bronşit hastalığına karşı yapılmış olan rutin aşılamaların etkinliği araştırılmıştır. Aşılar, her firma için aynı marka olarak uygulanmıştır. Pratikte de rutin uygulamaların teyidi ve gerekirse daha sonraki dönemlerde aşı tipi, aşılama yöntemi gibi konularda karar verebilmek için ELISA yöntemi kullanılarak incelemeler yapılmakta ve ilgili laboratuvarlar işletmeye test sonucuna göre gerekli görülen önerilerde bulunmaktadır. Çalışmamızda rutin aşılamalar sonrasında alınan kan serumlarında yapılan ELISA testlerinde gerek Newcastle gerekse İnfeksiyöz bronşit hastalığına karşı yapılan aşılamalarla istenen ve korunma için yeterli olan antikor titreleri ve bu titrelerin sürü içindeki homojen dağılımı görülmediği saptanmıştır. Heterojen olarak elde edilen sonuçların nedeninin aşılama uygulamaları ile ilgili manipulasyon farklılıkları olabileceği ve aşılama takviminin belirlenmesinde antikor saptanmasının gerekliliği görülmektedir. Bu sonuçlar ile pratikte aşılama uygulamalarında yetersizlik bulunduğu ve bunun geliştirilmesi; aşılama yapan kişilerin eğitimi yetkin olması ve gereken eğitimlerin sağlanması ayrıca hijyenik önlemler alınarak hastalıklarla daha etkin mücadele edilebileceği sonucuna varılmıştır. İşletmelerin şartları, kullanılan aşılar gibi detaylarla ilgili inceleme sonucunda testlerde çıkan ve beklenen dışında kabul edilen sonuçların nedenleri daha açık ortaya koyulabilecektir. Ayrıca infeksiyöz bronşit hastalığına karşı aşılama yapılmamış olan 5 işletmeden 3'ünde saptanmış olan yüksek titreler nedeniyle infeksiyon riskinin varlığı ve daha sonraki dönemlerde bu hastalığa karşı da aşılama yapılmasının önerilmesi sonucuna varılmıştır.

6. ÖZET

Araştırmamızda broiler üretimi yapan farklı bölgelerde bulunan çiftliklerden toplanan 241 adet kan örneği kullanılmıştır.

NDV ile aşılana çalışma dahilindeki 12 sürüden sadece ikisinde (Firma 1 ve Firma 3'e ait sürülerde) aşılama sonrası beklenen titre (10507, 10454) ve uygun % CV (49, 50) saptanmıştır. Bunun dışında kalan 10 sürünün 7'sinden elde edilen antikor titreleri (7346, 4987, 6876, 3382, 7912, 8461 ve 7722) düşük ve % CV değerleri (63, 78, 81, 75, 66, 61, 67) olarak saptanmıştır. 10 sürünün 3'ünden elde edilen antikor titreleri (9771, 10169, 9967) yüksek olmasına rağmen % CV değerleri de (sırasıyla % 62, % 73, % 75) yüksek olarak saptanmıştır.

IBV ile aşılana sürülerden birinde ise (Firma 12) düşük titre (792) ve yüksek CV (% 85) saptanmıştır. Sürülerden 5 tanesinde ise bulunan antikor titreleri 2477, 3883, 3987, 3876 ve 1152 olarak saptanmıştır. Firma 5' ait olan numunelerdeki ortalama antikor titresini ise (2538) bulunarak yeterli görülmeyle birlikte % CV bakımından (% 55) yüksek sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Newcastle Hastalığı, İnfeksiyöz Bronşitis, Aşı, ELISA

7. SUMMARY

In our study, 241 blood samples were collected and used from different broiler hatcheries.

In the study, out of 12 flocks vaccinated with NDV, the expected antibody titers (10507, 10454) and appropriate CV % (49, 50) were found in only 2 of them (Firm 1 and Firm 3). The antibody titers obtained out of the remaining 10 flocks were low (7346, 4987, 6876, 3382, 7912, 8461 and 7722) in 7 of them and CV % values were detected as 63, 78, 81, 75, 66, 61, 67. the antibody titers obtained from 3 flocks out of 10 were detected high (9771, 10169, 9967), therefore CV % values were detected high also (62 %, 73 %, 75 % respectively).

In one of the flocks vaccinated with IBV (Firm 12), low titer (792) and high CV % value (85 %) were detected. The antibody titers obtained from 5 of the flocks were detected as 2477, 3883, 3987, 3876 and 1152. the antibody titer obtained from Firm 5 (2538) was found sufficient and CV % value was detected high (55 %).

Keywords: Newcastle Disease, Infectious Bronchitis, Vaccine, ELISA

8. KAYNAKLAR

Ak S (1990) *İstanbul ve yöresindeki Newcastle aşısı ile aşılanmış tavukların bağışıklık düzeyleri üzerine araştırmalar*. Doktora tezi

Albassam MA, Winterfield RW, Thacker HL (1986) *Comparison of the nephropathogenicity of four strains of infectious bronchitis virus*. Avian Dis. 30:468-476

Aldous EW, Alexander DJ (2001) *Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type 1)*. Avian Pathology, 30: 117-128

Alexander DJ (1988) *Newcastle disease: Methods of spread*. In DJ Alexander (ed). *Newcastle disease*. Kluwer Academic Publishers: Boston, MA, 256-272

Alexander DJ, Gough RE (1997) *Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chicken*. Res. Vet. Sci. 23:344-347

Alexander DJ, Manvell RJ, Lowings P, Frost KM, Collins MS, Russell P, Smith J (1997) *Antigenic diversity and similarities detected in avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates using monoclonal antibodies*. Avian Path., 26, 399-418

Alexander DJ, Manvell RJ, Banks J, Collins MS, Parsons G, Cox B, Frost KM, Speidel EC, Ashman S, Aldous EW (1999) *Experimental assesment of the pathogenicity of the Newcastle disease viruses from outbreaks in Great Britain in 1997 for chickens and turkeys and the protection afforded by vaccination*. Avian Pahol 28:501-512

Alexander DJ, Bell JG, Alders RG (2004) *Technology Review: Newcastle Disease*. FAO Rome 2004

Allan WH, Lancaster JE, Toth B (1978) *Newcastle Disease Vaccines-Their Production and use*. FAO Animal Production and Health Series No:10, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome

Al-Zubeedy A.Z (2009) *Evaluation of two different vaccination programs against Newcastle disease in Nineveh Provence*. Journal of Anim. And Vet. Advances 8 (11) 2228-2231.

Andrade LF, Villega P, Fletcher OJ (1983) *Vaccination of day-old broilers against infectious bronchitis: Effect of vaccine strain and route of administration*. Avian Dis 27:178-187

Arda M, Başkaya H, Aydın N (1971) *Newcastle hastalığına karşı kloakal yolla aşılama üzerinde araştırma*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Dergisi 18:299-309

Aydın N (2002) *Newcastle Hastalığı (Yalancı Veba). Kanatlı Hastalıkları. Ed: İzgür, M., Akan, M.* Ankara: Medisan Yayın Evi, s.: 135-147

Ballal A, Karrar AE, ElHusseini AM (2005) *Serosurveillance Study on Avian Infectious Bronchitis Virus in Sudan.* Journal of Animal and Veterinary Advances, 4(11): 908-909

Başkaya H, Arda M (1970) *Patogen İsrail Newcastle suşu üzerinde immunolojik ve serolojik araştırmalar.* Ankara Üniv Yet Fak Derg, 17, 35-46.

Beard CW, Hanson RP (1984) *Newcastle Disease. ed: Hofstad, M.S., Barnes, H.J., Calnek, B.W., Reid, W.M., Yoder, H.W.Jr.:* Diseases of Poultry. 8 th ed., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa; 452-470

Beard CW, Villegas P, Glisson JR (1993) *Comparative efficacy of the B-1 and VG/GA vaccine strains against velogenic viscerotropic Newcastle disease virus in chickens.* Avian Dis, 37, 222-225.

Bell IG, Ait Belarbi D, Amara A (1990) *A controlled vaccination trial for Newcastle disease under village conditions.* Prev Yet Med, 9, 295-300.

Bennejean G (1988) *Newcastle disease: Control policies.*In DJ Alexander (ed.) *Newcastle Disease.* Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, 303-317

Bijlenga G, Cook JKA, Gelb JJr, De Wit JJ (2004) *Development and use of H strain of avian infectious bronchitis virus from Netherlands as a vaccine: a review.* Avian Pathology, 33(6): 550-557

Boursnel MEG, Brown TDK, Foulds IJ, Green PF, Tomley FM, Binns MM (1987) *Completion of the sequence of the genome of the coronavirus avian infectious bronchitis virus.* J. Gen. Virol. 68:57-77

Breslin JJ, Smith LG, Fuller FJ, Guy SJ (1999a) *Analysis of the matrix/nucleocapsid gene region of turkey coronavirus.* Intervirology 42:22-29

Brown TPJ, Bracewell CD (1988) *Effect of repeated infections of chickens with infectious bronchitis viruses on the spsesificity of their antibody responses.* Vet Rec 122:207-208

Box PG, Holmes HC, Finney PM, Froyman R (1988) *Infectious bronchitis in laying hens: The relationship between haemagglutination inhibition antibody levels and resistance to experimental challenge.* Avian Pathol 17:349-361

Bumstead N, Huggins MB, Cook JKA (1989) *Genetic differences in susceptibility to a mixture of avian infectious bronchitis virus and Escherichia coli.* Br Poult Sci 30:39-48

Butcher GD, Shapiro DP, Miles RD (2002) *Infectious bronchitis virus: Classical and variant strains*, <http://edis.ifas.ufl.edu> Erişim tarihi: Haziran 2009

Cardoso WM, Aguiar JLC, Romao JM (2005) *Effect of Associated Vaccines on the Interference between Newcastle Disease Virus and Infectious Bronchitis Virus in Broilers*. Brazilian Journal of Poultry Science v7/n.3 /181-184

Cavanagh D (2000) *Coronaviruses and Toroviruses*. Principles and Practice of Clinical Virology, 4th Ed., 345-356

Cavanagh D (2003) *Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experience of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus*. Avian Pathology, 32(6): 567-582

Chubb RC, Huynh V, Law R (1987) *The detection of cytotoxic lymphocyte activity in chicken infected with infectious bronchitis virus or fowl pox virus*. Avian Pathol 16:395-405

Cook JKA, Huggins MB (1986) *Newly isolated serotypes of infectious bronchitis virus :Their role in disease*. Avian Pathol. 15:129-138

Cook JKA, Smith HW, Huggins MB (1986) *Infectious bronchitis immunity: Its study in chickens experimentally infected with mixtures of infectious bronchitis virus and Escherichia*. J. Gen Virology 67:1427-1434

Cook JKA, Brown AJ, Bracewell CD (1987) *Comparison of the haemagglutination inhibition test and the serum neutralisation test in tracheal organ cultures for typing infectious bronchitis virus strains*. Avian path., 16:505-511

Cook JKA, Davidson TF, Huggins MB, Mclaughlan PI (1991) *Effect of in ovo busectomy on the course of an infectious bronchitis virus in line C White Leghorn chickens*. Arc Virol 118:225-234

Cook JKA, Otsuki K, Da Silva Martins R, Ellis MM, Huggins MB (1992) *The secretory antibody response of inbred lines of chicken to avian infectious bronchitis virus infection*. Arch. Virol. 118: 225-234

Cook JKA, Huggins MB, Orbell SJ, Mawditt K, Cavanagh D (2001) *Infectious bronchitis virus vaccine interferes with the replication of avian pneumovirus vaccine in domestic fowl*. Avian Pathology; 30: 233-242.

Commission Of The European Communities (1992) *Council directive 92/66/EEC of 14th July 1992 introducing Community measures for the control of Newcastle disease*. Official Journal of the European Communities, L260: 1-20

Davies HA, Dourmashkin RR and Macnaughton MR (1981) *Ribonucleoprotein of avian infectious bronchitis virus*. J. Gen. Virology, 53:67-74

De Wit JJ, Mekkes DR, Kowenhoven B, Verhijden JHM (1997) *Sensitivity and spesificity of serological tests for detection of infectious bronchitis virus induced by antibodies in broilers.* Avian Path 26:105-118

De Wit JJ, Mekkes DR, Koch G, Westenbrink F (1998a) *Detection of specific IgM antibodies to infectious bronchitis virus by an antibody-capture ELISA.* Avian Pathol 27:155-160

De Wit JJ, de Jong M, Pijpers A, Verheijden HM (1998b) *Transmission of infectious bronchitis virus within vaccinated and unvaccinated groups of chickens.* Avian Pathol 27:464-471

De Wit JJ (2000) *Detection of Infectious Bronchitis Virus.* Tecnical Rewiew, Avian Pathology, 29, s: 71-93

Dhinaker Raj G, Jones RC (1997) *Infectious bronchitis virus: Immunopathogenesis of infection in the chicken.* Avian Pathol. 26:677-706

Eck JHH (1983) *Effects of experimental infection of fowl with EDS'76 virus, infectious bronchitis virus and/or fowl adenovirus on laying performance.* Vet. Q 5:11-25

Erdei J, Bachir K, Kaleta EF, Shortridge KF, Lomniczi B (1987) *Newcastle disease vaccine (La Sota) strain spesific monoclonal antibody.* Arch Virol 96:265-269

Esendal MÖ (2002) *İnfeksiyöz Bronşitis, Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Editörler: İzgür.M., Akan.M., Medisan Yayınları.50. Ankara, s: 155-162*

Esendal M, Gümüşsoy KS (2003) *Kanatlılarda Newcastle hastalığına karşı göz ve burunyoluyla aşılamaların karşılaştırılması.* Ankara Üniv Vet Fak Derg, 50, 209-215

Fabricant J (2000) *The early History of Infectious Bronchitis.* Avian Disease, 42, s:648-650

Farsang A, Ros C, Renström HML, Claudia Baule TS, Belak S (2002) *Moleculer epizootiyology of infectious bronchitis virus in Sweden indicating the involvement of a vaccine strain.* Avian Pathology 31: 229-236

Gelb J, Killian SL (1987) *Serum antibody responses of chickens following sequential inoculations with different infectious bronchitis virus serotypes.* Avian Dis 31:513-522

Gelb J, Fries PA, Crary CK, Donahoe JP, Roessler (1987) *Sentinel bird approach to isolating infectious bronchitis virus.* J Am Vet Med Assoc 190:1628

Gelb JJr, Campion L, Ladman B (2004) *Interferência na replicação entre os vírus da bronquite infecciosa e da doença de Newcastle*. In: Anais vol.1 da Conferência Apinco de Ciência e Tecnologias Avícolas. São Paulo-Brasil. p. 63-70.

Giamborne JJ (1985) *Laboratory evolution of Newcastle Disease vaccination programs for Broiler chickens*. Avian Dis. 29 (2):479-487

Goldhaft TM (1980) *Historical note on the origin of the La Sota strain of Newcastle disease virus*. Avian Dis 24:297-301

Gough RE, Cox WJ, Winkler CE, Sharp MW, Spackman D (1996) Isolation and identification of infectious bronchitis virus from pheasants. Vet. Record 138:208-209

Gordon RF, Jordan FTW (1982) *Viral Diseases in Poultry Diseases*. Edited by Allan WH, Second Edition 97-113

Guittet M, Le Coq H, Morin M, Jestin V, Bennejean G (1993) *Distribution of Newcastle virus after challenge in tissues of vaccinated broilers*. In Proceeding of the Xth World Veterinary Poultry Association Congress, Sydney, 179

Hanson RP (1980) *Newcastle disease*. In *SB Hitchner, SH Domermuth, HG Purchase, JE Williams (eds.), Isolation and identification of avian pathogens*. American Association of Avian Pathologists: Kenneth Square, PA, 63-66a

Hanson RP (1988) *Heterogeneity within strains of Newcastle disease virus: Key to survival*. In *DJ Alexander (ed.) Newcastle Disease*. Kluwer Academic Publishers: Boston, MA 113-130

Hofstad MS (1984) *Diseases of Poultry*, 8th Ed. Iowa State University Press 429-443

Hofstad MS (1981) *Cross-immunity in chickens using seven isolates of avian infectious bronchitis virus*. Avian Dis 25:650-654

Hofstad MS, Yoder HW (1996) *Avian infectious bronchitis –virus distribution in tissues of chicks*. Avian dis. 10:230-239

Hopkins SR, Yoder HW (1986) *Reversion to virulence of chicken passaged infectious bronchitis vaccine virus*. Avian Dis 30:221-223

Hoshi S, Mikami T, Nagata K, Onuma M, Izawa H (1983) *Monoclonal antibodies against a paramyxovirus isolated from Japanese sparrow-hawks*. Arch Virol 76:145-151

Ignjatovic J, Mcwaters (1994) *Monoclonal antibodies to three structural proteins of avian infectious bronchitis virus: Characterization of epitopes and antigenic differentiation of Australian strains*. J Gen Virol 72:2915-2922

Ignjatovic J, Galli L (1994) *The SI glycoprotein but not the N or M proteins of avian infectious bronchitis virus induces protection in vaccinated chickens.* Arch Virol 138:117-134

Kalte EF, Baldauf C (1988) *Newcastle disease in free-living and pets.* In D.J. Alexander (ed). Newcastle Disease. Kluwer Publishers: Boston, MA, 197-246.

Karaca K, Koch G, van Rozelaar DJ, Kusters JG, Poelwijk JG, and van der Zeijst BAM (1992) *Location of antigenic sites defined by neutralising monoclonal antibodies on the avian SI avian infectious bronchitis virus glycopolyptide.* J. Gen. Virol. 73:591-596

Karaca K, Naqi S, Gelb J (1992) *Production and characterisation of monoclonal antibodies to three infectious bronchitis virus serotypes.* Avian Dis 36:903-915

Karaca K, Naqi S (1993) *A monoclonal antibody based ELISA to detect serotype specific infectious bronchitis virus antibodies.* Vet Microbiol 34:249-257

Klieve AV, Cumming RB (1988a) *Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines.* Avian Pathol 17:829-839

Klieve AV, Cumming RB (1988b) *Infectious bronchitis: Safety and protection in chickens with maternal antibody.* Aust Vet J 65:396-397

King, DJ and Hopkins, SR (1984) *Rapid serotyping of infectious bronchitis virus isolates with haemagglutination inhibition test.* Avian Dis, 28:727-733

Koch G, Hartog L, Kant A, van der Rozelaar DJ (1990) *Antigenic domains on the peplomer protein of avian infectious bronchitis virus: Correlation with biological functions.* Aust. Vet J 65:396-397

Kotani T, Shiraishi Y, Tsukamoto Y, Kuwamura M, Yamate J, Sakuma S, Gohda M (2000) *Epithelial Cell Kinetics in the Inflammatory Process of Chicken Trachea Infected with Infectious Bronchitis Virus.* Journal of Veterinary Medicine Science, 62(2):129-134

Kouwenhoven B (1993) *Paramyxovirus Infection.* In: *Virus Infection of Birds.* Ed.: McFerran J.B. ve McNulty M.S., Netherlands; Elsevier Science Publisher, p.: 341-374

Lambrechst C, Pensaert M, Ducatelle R (1993) *Challenge experiments to evaluate cross-protection induced at the trachea and kidney level by vaccine strains and Belgian nephropathogenic isolates of avian infectious bronchitis virus.* Avian Pathol. 22:577-590

Marquardt WW, Snyder DB, Schlothober BA (1981) *Detection and quantification of antibodies to infectious bronchitis virus by enzyme-linked immunosorbent assay.* Avian Dis 25:713-722

McMullin P (1985) *Factors which interfere with vaccine efficacy*. Proceedings of the 1st St Catarina Poultry Symposium pp 10-20

Meulemans G (1988) *Control by vaccination*. In DJ Alexander (ed). Newcastle Disease. Kluwer Academic Publishers: Boston, MA, 318-332

Meulemans G, Gonze M, Carlier MC, Petit P, Burny A, Le Long (1987) *Evaluation of the use of monoclonal antibodies to hemagglutination and fusion glycoproteins of Newcastle disease virus for virus identification and strain differentiation purposes*. Arch Virol 92:55-62

Mockett APA, Darbyshire JH (1981) *Comparative studies with an enzyme –linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to avian infectious bronchitis virus*. Avian Pathol 10:1-10

Montgomery YRD, Maslin WR, Boyle CR (1997) *Effects of Newcastle disease vaccines and Newcastle disease/infectious bronchitis combination vaccines on the head-associated lymphoid tissues of the chicken*. Avian Diseases; 41(2):399-406.

Office International Des Epizooties (OIE) (2002). *Newcastle disease*. Erişim: [http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/a_A160.htm] Erişim tarihi: 25.06.2009

Otsuki K, Huggins MB, Cook KA (1990) *Comparison of the susceptibility to infectious bronchitis virus infection of two inbred lines of white leghorn chickens*. Avian Pathology 19:467-475

Parede L, Young PL (1990) *The pathogenesis of the Newcastle disease virus infection of chickens of different ages and different levels of immunity*. Avian Dis 34:803-808

Pensaert M, Lambrecht C (1994) *Vaccination of chickens against a Belgian nephropathogenic strain of infectious bronchitis virus B1468 using attenuated strain of infectious bronchitis and heterologous strains*. Avian Pathol 23:631-41

Powell JR, Aitken ID, Survashe BD (1979) *The response of the Harderian gland of the fowl to antigen given by the ocular route. II Antibody production*. Avian Pathol. 8:363-373

Ratanasethakul C, Cumming RB (1983) *The effect of route of infection and strain of virus on the pathology of Australian infectious bronchitis*. Aust Vet J 60:209-213

Reeve P, Alexander DJ, Allan WH (1974) *Derivation of an isolate of low virulence from the Essex '70 strain of Newcastle disease virus*. Vet Rec 94:38-41

Reynolds DL, Maraqa AD (2000) *Protective immunity against Newcastle disease: The role of cell-mediated immunity*. Avian Dis 44:145-154

Riddell C (1987) *Avian histopathology*. American Association of Avian Pathology: Kenneth Square, PA.

Rosenberger JK, Gelb J (1978) *Response to several avian respiratory viruses as affected by infectious bursal disease virus*. Avian Dis 22:95-105

Russel PH (1993) *Newcastle disease virus. Virus replication in the Harderian glands stimulates lacrimal IgA; the yolk sac provides early lacrimal IgG*. Vet Immunol Immunopathol 37:151-163

Russel PH, Koch G (1993) *Local antibody forming cell responses to the Hitchner B1 and Ulster strains of Newcastle disease virus*. Vet Immunol Immunopathol 7:165-180

Russel PH, Ezeifeka GO (1995) *The Hitchner B1 strain of Newcastle disease virus induces high levels of IgA, IgG and IgM in newly hatched chicks*. Vaccine 13:61-66.

Saif YM (Chief) Editor (2003) *Diseases of poultry* 11th Ed. Iowa State Press, Blackwell Company

Seal BS, King DJ, Bennet JD (1995) *Characterization of Newcastle disease virus isolates by reverse transcription pcr coupled to direct nucleotide sequencing and development of sequence database for pathotype prediction and molecular epidemiological analysis*. J. Clin.Micr., 33: 2624-2630

Smith HW, Cook JKA, Parsell ZA (1985) *The experimental infection of with mixtures of infectious bronchitis and Escherichia coli*. J. Gen. Virol. ,66:777-786

Smith JA (2002) *Impact of mild Newcastle disease vaccines on control of IBV*. Proc. 37th National Meetings on Poultry Health and Processing. Ocean City, Maryland. p. 31-44.

Srinivasappa GB, Snyder DB, Marquart WW, King DJ (1986) *Isolation of a monoclonal antibody with spesificity for commonly employed vaccine strains of Newcastle disease virus*. Avian Dis 30:562-567

Thayer SG, Eidson CS, Kleven SH (1983) *Multivalent inactivated virus oil-emulsion vaccines in Broiler breeder chickens*. Puoltry Science 62(10):1991-1997

Villegas P, Anderson DP, Kleven SH, Vezey SA (1977) *Aerosol vaccination against Newcastle Disease III-Field experiments in Broiler chickens*. Avian Dis. 21(1):16-25

Wadey CN, Faragher JT (1981) *Australian infectious bronchitis viruses: Identification of nine subtypes by a neutralisation test*. Res Vet Sci 30:70-74

Wang T (1994) *Evolutinary implications of genetic variations in the S1 gene of infectious bronchitis virus*. Virus Res. 34:327-338

Westbury HA, Parsons G, Allan HW (1984) *Comparison of the immunogenicity of NDV strains V4, Hitchner B1 and LaSota in chickens.* Australian Veterinary Journal, 61 (1):10-13

Winterfield RW, Dhillon AS, Alby LJ (1980) *Vaccination of chickens against Newcastle disease with live and inactivated Newcastle disease virus.* Poult. Sci., 59:240-246.

ÖZGEÇMİŞ

1963 yılında Eskişehir’de doğdum. 1986 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden mezun oldum. 1987 yılında özel sektörde, veteriner ilaç üretip pazarlayan bir firmada teknik sorumlu olarak çalışmaya başladım. 1990 yılından itibaren de aynı sektörde bir başka firmada ilaç ruhsatlandırma ve teknik büro sorumlusu olarak çalıştım. Emekli olduğum 2007 yılı başına dek ise yaklaşık 10 yıl uluslararası bir veteriner ilaç firmasının Türkiye sorumlusu olarak çalıştım.

Yabancı dil olarak iyi derecede İngilizce bilmekteyim. Evli ve iki çocuk annesiyim.

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım boyunca ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışmanım Prof. Dr. Osman KAYA'ya, çalıŐmalarım boyunca ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Őukrü KIRKAN'a, tüm Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Öğretim Yardımcılarına, ayrıca yardımlarını gördüğüm Uzman Veteriner Hekim Güney GÖKÇELİK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.