

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**EGE BÖLGESİ'NDEKİ KANATLI İŞLETMELERİNDE AVİAN
HEPATİTİS E VİRUS ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

UMAY BAŞAK AYDIN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nural EROL

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-
17070 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Umay Başak AYDIN tarafından hazırlanan “Ege Bölgesi’ndeki Kanatlı İşletmelerinde Avian Hepatitis E Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22/07/2019

Üye (T.D.) : Doç.Dr. Nural EROL Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Mehmet KALE Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. M. Tolga TAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Cavit KUM

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle tez konusu seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde destek veren danışmanım Doç. Dr. Nural EROL'a, laboratuvar çalışmalarında her türlü olanağı sağlayan Uzm. Veteriner Hekim Güney GÖKÇELİK'e ve Muhsin KÖSOĞLU'na, örneklemeler konusundaki desteği için Doç. Dr. Fethiye ÇÖVEN'e, istatistik değerlendirmeleriyle tezime katkı sağlayan Bahçeşehir Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Rıfat KAMASAK'a, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. H. Değer ORAL TOPLU'ya ve Arş. Gör. Dr. Mehmet KAYA'ya yardımları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Viroloji Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. M. Tolga TAN ve Arş. Gör. Dr. B. Taylan KOÇ'a yüksek lisans tezim süresindeki tüm yardımları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Hepatitis E Virus Enfeksiyonlarının Tarihçesi ve Önemi.....	4
2.2. Etiyoloji.....	6
2.2.1. Sınıflandırma.....	6
2.2.2. Morfoloji ve Genom Yapısı.....	9
2.2.3. Dayanıklılık.....	11
2.2.4. Virus Replikasyonu.....	12
2.3. Epidemiyoloji.....	14
2.4. Patogenez.....	16
2.5. Klinik ve Patolojik Bulgular.....	16
2.6. Immünite.....	19
2.7. Tanı.....	20
2.8. Koruma – Kontrol.....	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	23
3.1. Gereç.....	23
3.1.1. Kan Serumı Örnekleri.....	23
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	25

3.2.1.1. Kit İçeriği ve Kullanılan Malzemeler.....	25
3.2.1.2. Testin Uygulanışı.....	26
3.2.1.3.Sonuçların Değerlendirilmesi.....	27
3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Yetiştirme Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları.....	29
4.2. İllere Göre Seropozitiflik Dağılımları.....	30
4.3. Yaşa Göre Broiler, Broiler Damızlık ve Yumurtacılar da Seropozitiflik Dağılımları	31
5. TARTIşMA.....	35
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
EKLER.....	56
ZGEMİş.....	61

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

aHEV	: Avian Hepatitis E Virus
AGID	: Agar Gel Immunodiffusion Assay
BLSA	: Big Liver and Spleen Disease
DHAV	: Duck Hepatitis A Virus
DHBV	: Duck Hepatitis B Virus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FAdV	: Fowl Adenovirus
HSS	: Hepatitis-Splenomegaly Syndrome
IgG	: Immunoglobulin G
ORF	: Open Reading Frame
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Reverse Transcriptase - Polimerase Chain Reaction
SPF	: Specific Pathogen Free
THV	: Turkey Hepatitis Virus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hepeviridae ailesinin taksonomik sınıflandırılması.....	7
Şekil 2. Orthohepevirus cinsinin filogenetik ağacı.....	8
Şekil 3. Sekiz aHEV sekansı ve bir domuz HEV sekansının filogenetik ağacı.....	9
Şekil 4. HEV genom yapısı ve viral proteinleri.....	11
Şekil 5. HEV'in replikasyon şeması.....	13
Şekil 6. Yaşa göre broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklardaki aHEV seropozitiflik yüzdelerinin karşılaştırılması.....	32

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Avian HEV'in üç boyutlu modeli ve elektron mikroskopuyla görüntüsü.....	10
Resim 2. 42 haftalık broiler damızlığına ait genişlemiş ve hemorajik karaciğer.....	18
Resim 3. Genişlemiş dalak.....	18
Resim 4. Karaciğer parankiminin sinüzoidal hücrelerinde BLSV virus antijeni.....	19

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Aydın, İzmir, Uşak, Denizli, Muğla ve Manisa illerinden alınan yetiştirme türüne göre örnek sayıları.....	23
Tablo 2. Örnek alınan hayvanların yetiştirme türüne ve yaşlarına göre sayıları.....	24
Tablo 3. Yetiştirme türlerine göre seropozitiflik dağılımları.....	29
Tablo 4. Broiler, broyler damızlık ile yumurtacı gruplardaki antikor pozitif örneklerin ortalama antikor titreleri bakımından genel karşılaştırılması.....	30
Tablo 5. İllere göre tavuklardaki aHEV seropozitiflik dağılımları.....	30
Tablo 6. Yaşlara göre broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklardaki aHEV seropozitiflik dağılımları.....	31
Tablo 7. Yaşlarına göre broiler damızlık, broiler ve yumurtacı tavuklardaki aHEV titrelerinin karşılaştırılması.....	33
Tablo 8. Broiler damızlıklarda yaş gruplarına göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılması.....	33
Tablo 9. Yumurtacılar da yaş gruplarına göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılması.....	34
Tablo 10. 0 - 45. günler arası yetiştirme türüne göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılması.....	34

ÖZET

EGE BÖLGESİ'NDEKİ KANATLI İŞLETMELERİNDE AVIAN HEPATİTİS E VİRUS ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Aydın UB. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji (Veteriner) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Avian Hepatitis E virusu (aHEV) tavuklarda büyük karaciğer ve dalak hastalığına (Hepatitisplenomegali sendromu) neden olmaktadır. Bu enfeksiyon, kanatlı endüstrisinde yumurta üretimindeki şiddetli bir düşüş ve tavuklardaki yüksek ölüm oranları nedeniyle ciddi bir ekonomik etkiye sahiptir. Enfeksiyon 2000'li yılların başından itibaren dünyada tanınmaya ve araştırılmaya başlandığı için, hakkındaki bilgiler sınırlı kalmaktadır. Türkiye'deki kanatlı işletmelerinde de zaman zaman aHEV enfeksiyonunun benzer bulgularına rastlanmasına rağmen enfeksiyonunun varlığına veya epizootiyolojik durumuna yönelik bir rapor henüz bulunmamaktadır.

Bu çalışma, bilindiği kadarıyla, Türkiye'de kanatlı işletmelerinde aHEV enfeksiyonunun varlığının ve yaygınlığının araştırılması amacıyla hazırlanan ilk bilimsel rapordur.

Bu çalışmada, Aydın, Manisa, Muğla, İzmir, Uşak ve Denizli illerindeki tavukçuluk işletmelerinden alınan 948 broiler damızlık, 490 broiler, 20 yumurtacı damızlık ve 363 yumurtacı olmak üzere toplam 1821 adet kanatlıdan alınan serum örneği ticari BLS Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (The Big Liver and Spleen Disease Antibody test Kit®, BioChek, Berkshire, UK) kullanılarak anti aHEV antikörlerinin varlığı yönünden test edildi.

Çalışma sonucunda tüm tavukların %7,80'inde (142/1821) seropozitiflik saptanmıştır. Seropozitiflik oranları broiler tavuklarda %5,31 (26/490), broiler damızlık tavuklarda %5,38 (51/948), yumurtacı tavuklarda %17,91 (65/363), yumurtacı damızlık tavuklarda ise %0,00 (0/20) olarak tespit edilmiştir. Kanatlı HEV enfeksiyonu her ne kadar literatürlerde broiler damızlık ve yumurtacı tavukların hastalığı olarak geçse de; bu çalışma ile Ege Bölgesi'ndeki broilerlerde de yüksek seropozitiflik saptanmıştır. Yaş artışı ile birlikte seropozitiflik oranlarının da arttığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antikor, avian hepatitis E virusu, ELISA, seropozitiflik, tavuk

ABSTRACT

SEROLOGICAL INVESTIGATION OF AVIAN HEPATITIS E VIRUS INFECTION IN POULTRY ENTERPRISES IN AEGEAN REGION

Aydin, U.B. Aydin Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Virology (Veterinary Medicine) Magister Program, M.Sc. Thesis, Aydın, 2019.

Avian Hepatitis E Virus causes Big Liver and Spleen Disease (Hepatitis -splenomegaly syndrome) in poultry. This infection has a serious economic impact in poultry industry as a result of a severe drop in egg production and elevated mortality rates in chickens. Although the infection has been recognized and studied in the world since the early 2000s, there is not much information about the disease. AHEV infection is occasionally encountered in the field with similar findings and samples sent for diagnosis to laboratories, there is not any substantial information about the presence and prevalence of the infection or any epizootiologic report.

This research, as far as known, is the first scientific report on the presence and prevalence of aHEV infection in poultry industry in Turkey.

In this study, 1821 serum samples from 948 broiler breeder, 490 broiler, 20 layer breeder and 363 layer, in Aydın, Manisa, Muğla, İzmir, Uşak and Denizli, were screened for the presence of anti aHEV antibodies by using a commercial BLS Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) The Big Liver and Spleen Disease Antibody Test Kit (BioChek, Berkshire, UK).

As a result of the study, 7.80% (142/1821) seropositivity was detected in all the chicken. Seropositivity rates were found as 5.31% (26/490) in broiler chickens, 5.38% (51/948) in broiler breeders, 17.91% (65/363) in layers and 0.00% (0/20) in layer breeders. Although poultry HEV infection is reported as a disease of broiler breeder and layers in the literature; in this study, high seropositivity was detected also in broiler chickens in Aegean Region. The seroprevalence was also increased with increasing age range. The increase of seropositivity was observed along with age increase.

Keywords: Antibody, avian hepatitis E virus, chicken, ELISA, seropositivity

1. GİRİŞ

Karaciğer, sağlıklı bir canlı için temel organlardan biridir. Sindirilen besinlerin işlenmesi ve depolanması ile atık ürünlerden sorumludur. Bir canlının sağlıklı kalabilmesi için karaciğer kondisyonunun iyi olması gerekir.

Kanatlılarda görülen viral hepatitler; avian Hepatit E Virus (aHEV), Ördek Hepatit B Virus (DHBV), Ördek Hepatit A Virus (DHAV), Ördek Hepatit Virusu Tip 2 ve Tip 3, kanatlı Adenovirusları (FAdV) ve Hindi Hepatit Virus (THV) gibi farklı ailelerden virusların yol açtığı önemli hastalıklardır. Kanatlı hepatit viruslarının hepsi öncelikle karaciğeri hedef almasına rağmen, virus morfolojileri ve patogenezi birbirinden farklıdır.

Avian Hepatitis E virusu (aHEV) tavuklarda büyük karaciğer ve dalak hastalığına (Hepatit-splenomegali sendromu) neden olmaktadır. Enfeksiyon, tavuklarda yumurta veriminde azalmaya ve ölümlere sebep olması sonucu kanatlı endüstrisinde ekonomik problemlere yol açmaktadır (Morrow ve ark, 2008; Troxler ve ark, 2014).

Avian HEV enfeksiyonu ilk kez Avustralya'da broiler damızlıklarda 'Big Liver and Spleen Disease' (BLSD) olarak ve daha sonra Kuzey Amerika'da yumurtacı ve broiler damızlıklarda 'Hepatitis-Splenomegaly Syndrome' (HSS) olarak isimlendirilmiştir (Payne ve ark, 1999; Haqshenas ve ark, 2001; Shivaprasad ve ark, 2008).

Avian HEV enfeksiyonu, en başta yumurta üretiminde önemli düşüş, depresyon, ölüm oranında artış (Shivaprasad ve ark, 2008; Morrow ve ark, 2008), patolojik olarak ise büyümüş karaciğer ve bazılarında splenomegali, karında serosanguinöz sıvı ve pıhtılaşmış kan toplanması ile karakterize bir hastalık oluşturur. Bu sendromlardaki yaygın histopatolojik değişiklikler spesifik olmayan bir hepatittir. Ancak hepatik amiloidoz ve vasküler lezyonlar HSS ile tanımlanmıştır (Morrow ve ark, 2008). Bununla birlikte hastalıkta yüksek oranda seropozitifliğe rastlanması, enfeksiyonun inapparent olarak seyredebileceğini ve gizli şekilde yayıldığını göstermektedir (Hsu ve ark, 2014).

Bazı hayvanlarda görülen HEV enfeksiyonları zoonoz karakter göstermesine rağmen, kanatlıların HEV viruslarının zoonoz özelliği şimdiye kadar kanıtlanamamıştır (Sun ve ark, 2004a; Meng, 2011). Ancak enfekte yumurtaların, etlerin tüketiminin ve kümes hayvanlarının

yetiştirilmesinin halk sağlığı açısından sorun oluşturabileceği dile getirilmiştir (Hsu ve Tsai, 2014).

Kanatlı hepatit E virusları genetik olarak insan ve domuz hepatit E virusu ile ilişkili olmasına rağmen farklı viruslardır (Payne ve ark, 1999; Haqshenas ve ark, 2002). Avian HEV genomu, memeli HEV genomu ile %48 oranında benzerlik göstermektedir (Haqshenas ve ark, 2002).

Avian HEV enfeksiyonu özellikle yetişkin yumurtacı tavuklarda ve broiler damızlıklarda önem arz etmektedir. (Meng ve Shivaprasad, 2013).

Tavuklar, etkene her yaşta duyarlı olmalarına rağmen, klinik belirtiler 24 haftalıktan daha büyük tavuklarda gözlenmektedir (Haqshenas ve ark, 2001). Genellikle 30 – 72 haftalık yumurtacı tavuklarda yüksek mortalite ile seyretmektedir ve en yüksek insidens 40-50 haftalık yaş aralığındadır (Riddell, 1997; Shivaprasad ve Woolcock, 1995). Haftalık lm oranı % 1'e kadar artış gösterebilir.

Genişlemiş karaciğer ve dalak, sbkapsler karaciğer kanaması ve viseral boşluklarda kanlı sıvı varlığı, avian HEV enfeksiyonunun tipik patolojik bulgularıdır. Bunların yanında; gelişme geriliği ve yumurta veriminde %20 azalma görülmektedir (Sun ve ark, 2004a; Peralta ve ark, 2009). Çoğu vakada; uyuşukluk, anoreksi, ibikte solgunluk, tüylerde dökülme, seksüel olgunlukta gecikme, verim düşüklüğü ve peritonit bulguları da gözlenir (Crerar ve Gross, 1994a;b; Handler ve Williams, 1988; Payne, 2001; Riddell, 1997; Agunos ve ark, 2006). Bununla birlikte; görünüşte sağlıklı tavuk sürülerinde de aHEV tespit edilmiştir (Sun ve ark, 2004a).

Hayvanların sağlıklı olarak yetiştirilebilmesi için enfeksiyöz hastalıklardan koruma önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, bölgede bulunan yaygın hastalıkların bilinmesi, viral hastalıklar yönünden sürekli kontrollerinin yapılması gerekmektedir. Viral hastalıkların teşhis edilmesi, epizootiyolojik kontrol ve analizlerinin düzenli olarak yapılması ile bölgedeki varlıklarının ve yaygınlıklarının belirlenmesi mücadele, kontrol ve eradikasyon açısından çok önemli olup, bu hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılmasına ve hatta ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilmektedir.

Coğrafi kökenlerine göre – Avustralya, Kuzey Amerika ve Avrupa – Avian HEV'in 3 genotipi tanımlanmıştır (Bilic ve ark, 2009; Marek ve ark, 2010). Son zamanlarda, Rusya, Kore ve Çin'deki tavuk sürülerinde de aHEV enfeksiyonları bildirilmiştir (Zhao ve ark, 2010; Kwon ve

ark, 2012; Sprygin ve ark, 2012). Avrupa'da Macaristan ve İtalya'da hastalık vakaları görülürken (Massi ve ark, 2005, Morrow ve ark, 2008); Macaristan ve Tayvan'da yeni bir genotip bulunduğu bildirilmiştir (Bányai ve ark, 2012; Hsu ve Tsai, 2014).

Dünya çapındaki tavuk sürülerinin önemli bir kısmı avian HEV için seropozitifdir. Ancak her seropozitif sürüde mutlaka HSS veya BLSD'nin görülmebileceği bildirilmiştir (Meng ve ark, 2013). Bu durum enfeksiyonun çoğunlukla semptomsuz ve gizli seyrettiği anlamına gelmektedir.

Kanatlı hepatit viruslarının halk sağlığı üzerine etkileri, çapraz tür enfeksiyonları, zoonotik özellikleri coğrafik yaygınlığı ve genetik çeşitliliği üzerine çalışmalar henüz yeterli değildir.

Türkiye'de kanatlı işletmelerinde zaman zaman aHEV enfeksiyonunun benzer bulgularına rastlanmasına ve laboratuvarlara teşhis amaçlı örnekler gönderilmesine rağmen enfeksiyonunun varlığına ve epizootiyolojik durumuna yönelik bir rapor henüz bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı, Ege Bölgesi'ndeki (Aydın, İzmir, Uşak, Denizli, Muğla ve Manisa yörelerindeki) kanatlı işletmelerinde Avian Hepatitis E virus (aHEV) enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlığının araştırılmasıdır. Enfeksiyonun varlığı ve yaygınlığı tavukların yetiştiriliş amaçları (broiler, broiler damızlık, yumurtacı, yumurtacı damızlık), yaşı ve lokasyonları (buldukları il) dikkate alınarak incelenmiştir. Bu veriler ile aHEV enfeksiyonuna zemin hazırlayan faktörlerin belirlenmesi hedeflenmektedir. Bu araştırma, Türkiye'de aHEV enfeksiyonu hakkında yapılmış ilk bilimsel araştırmadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatitis E Virus Enfeksiyonlarının Tarihçesi ve Önemi

Hepatit, yüzyıllardır bilinmesine rağmen; ancak 19. Yüzyılda sarılık ile hepatositleri etkileyen hastalıklar arasında bir bağ kurulmuştur. Hepatit terimi, ‘karaciğer’ anlamına gelen Eski Yunanca’da “hepar” kelimesinden gelir ve Latince “itis”- iltihap eki alarak türetilmiştir. Hepatitis; yani karaciğerin iltihaplanması anlamına gelmektedir. Lezyonlar sınırlı olabileceği gibi, fibrozise ve sonunda siroza da dönüşebilir. Hepatit nedenleri viral, bakteriyel, toksik, immunolojik veya metabolik olabilir.

Viral hepatitler insanlık tarihinin en eski hastalıklarındandır. Hastalığın bilimsel anlamda ilk tanımı 1865 yılında ünlü patolog Virchow tarafından ‘kataral ikter’ olarak yapılmıştır. Viral hepatit tablolarından birden fazla etkenin sorumlu olabileceği, II. Dünya Savaşı’nda sarılık salgımından etkilenen askerlerde farklı klinik tabloların ortaya çıkması ile düşünölmeye başlanmıştır. Hepatit B virus antijeninin keşfi ile viral hepatit etkenleri ile ilgili çalışmalar da hız kazanmıştır. Hepatit A (HAV) ve Hepatit B Virusü (HBV) tanımlandıktan sonra açıklanamayan hepatit olguları devam etmiştir. 1974 yılında “non-A non-B” virusu kavramları geliştikten sonra, bu grupta birbirinden farklı iki virusun olduğu anlaşılmıştır. Bu viruslardan birinin, HBV’ye benzer şekilde kan ve kan ürünleriyle parenteral yolla bulaştığı belirlenmiş ve bu virus daha sonra hepatit C virusü (HCV) olarak tanımlanmıştır (Oon, 2012).

Diğer virusun ise HAV’a benzer şekilde kontamine su ve su ürünleriyle bulaştığı gösterilmiştir. HAV için özel serolojik tanı testlerinin geliştirilmesiyle, epidemiyolojik olarak HAV’a benzeyen fakat serolojik olarak HAV’dan farklı olan bu virus, enterik yolla bulaşan non-A non-B etkeni olarak kabul edilmiş (Khuroo, 2011) ve Hepatit E Virusü (HEV) olarak isimlendirilmiştir (Tam ve ark, 1991).

19. yüzyılda yayınlanan monograflarda, özellikle Batı Avrupa’da, 18. yüzyılın başlarında birçok Hepatit E benzeri salgından bahsedildiğine rastlanmıştır (Teo, 2012). Ancak, bu tip hepatit seyrinin ayrıntılı bir tanifi 1983 yılına kadar mevcut değildi. Balayan ve ark (1983) tarafından, non-A non-B hepatit etkeni içeren havuzlanmış dışkı ekstraktlarının verildiği gönüllülerden izole edilmiştir. Bu hastalardan alınan dışkı örneklerinde elektron mikroskopu ile virus tespit edilmiş,

bu hastaların serum örneklerinde akut hepatit A ve B serolojik testleri negatif olarak saptanmıştır. HEV genomunun sekansının yapılmasıyla, immunolojik epitopların da belirlenmesi sağlanmıştır (Yarbough ve ark, 1991; Tam ve ark, 1991). Böylece, HEV'e karşı antikorları tespit edebilen serolojik testler geliştirilmiştir (Dawson ve ark, 1992).

HEV'in, ABD ve Avustralya'daki evcil ve yaban domuzlarından ilk defa izole edilene kadar, insanlarla sınırlı olduğu sanılıyordu (Meng ve ark, 1997; Chandler ve ark, 1999).

Domuz eti yenmesi sonucu insanda görülen ilk enfeksiyon vakaları Japonya'da bildirildi (Yazaki ve ark, 2003). O zamana kadar HEV'in sadece insandan insana bulaştığı ve bunun kaynağının da insan dışkısı ile kontamine su kaynakları olduğu düşünülmektedir.

HEV'in domuzlarda (swine HEV), tavuklarda (avian HEV), son zamanlarda tavşan, kemirgen, yaban domuzu, gelincik, yarası ve koyunlarda bulunmasının yanı sıra; deneysel olarak domuz HEV'in makaklara deneysel bulaştırılması, Hepatit E enfeksiyonunun zoonoz olduğu düşüncesini oluşturmuştur. Bu teori, Japonya'da yapılan pişmemiş domuz ve geyik eti ile insanların enfekte edilmesi ile ispatlanmıştır (Miyashita ve ark, 2012). 1980'lerin başında ilk kez Avustralya'daki tavuklarda 'Büyük Karaciğer ve Dalak Hastalığı (Big Liver and Spleen Disease; BLSD)' etkeni olarak aHEV benzeri virus bildirilmiştir (Payne ve ark, 1999).

Büyük Karaciğer ve Dalak Hastalığı, 1980 ve 1990 yılları arasında, tavuk başına ortalama 8 yumurta kaybı yaşanması, tüm sürülerin yaklaşık %50'sinin etkilenmesiyle sektöre 2,8 milyon Dolar zarar vererek Avustralya'daki ticari broiler üreticilerinin ekonomik yönden en önemli hastalığı haline gelmiştir (Yugo ve ark, 2016). Daha sonra Kanada, İngiltere, Amerika, Çin, Japonya ve Batı Avrupa'da da benzer belirtilere sahip vakalar bildirilmiştir. Etkilenen hayvanlarda canlı ağırlık kaybı ve yumurta üretiminde azalma göze çarpmıştır. Karakteristik patolojik değişiklikler karaciğer ve dalaktaki büyüme olarak tespit edilmiştir. Etken belirlenmeden önce, ana bulgulara dayanarak, 'Big Liver and Spleen Disease (BLSD) - Büyük Karaciğer ve Dalak Hastalığı' veya 'Hepatitis-Splenomegaly Sendrom (HSS) – Hepatik-Splenomegali Sendromu' olarak adlandırılmıştır (Shivaprasad ve ark, 2008). Ayrıca Necrotic Hemorrhagic Hepatitis-Splenomegaly Syndrome (Reed ve ark, 1993), Necrotic Hemorrhagic Hepatomegaly Hepatitis (Tablante ve ark, 1994) ve Chronic Fulminating Cholangiohepatitis (Kerr ve ark, 1993) gibi çeşitli isimlerle de anılmıştır.




















HS sendromu ilk defa 1991 yılında Kanada'da bildirilmiştir (Ritchie ve Riddell, 1991). Bundan 10 yıl sonra, Amerika'da Haqshenas ve ark (2001), HS sendromlu tavukların safrasından, insan HEV'i ile arasında genetik ve antijenik ilişki bulunan bir virus izole etmiştir. Benzer genomik yapısını, insan ve domuz HEV'leriyle olan önemli sekans kimliklerini temel alarak, tavuklardaki bu yeni virusü memeli HEV'inden ayırmak için, avianHEV olarak tanımlandı. Avrupa'da görülen ilk HSS vakaları ise İtalya (2004) ve Macaristan'da (2005) bildirilmiştir (Massi ve ark, 2005; Morrow ve ark, 2008).

2.2. Etiyoloji

2.2.1. Sınıflandırma

Hepatit E virusunun ilk olarak *Picornaviridae* ailesinde sınıflandırılması önerilmiştir (Balayan ve ark, 1983). Daha sonraki çalışmalar, bu ailenin üyesi olmadığını göstermiştir. 1988-1998 yılları arasında, virion morfolojisindeki benzerlik bakımından geçici olarak *Caliciviridae* ailesinde yer almıştır. Bu sınıflandırma, HEV genomunun filogenetik analizi sonrasında reddedilmiş ve yalnızca kendi genusunun yer aldığı *Hepeviridae* ailesinde sınıflandırmıştır (Berke ve Matson, 2000; Acha ve Szyfres, 2003; Purdy ve ark, 2017). Bu aile içinde *Orthohepevirus* ve *Piscihepevirus* olmak üzere iki cins bulunur. *Piscihepevirus* cinsinin üyeleri alabalıkları etkilerken; aHEV'in de içinde bulunduğu *Orthohepevirus* cinsi, memeli ve kuşları etkilemektedir. *Orthohepevirus* cinsi altında dört viral tür sıralanmaktadır; *Orthohepevirus A* (insan, domuz, yaban domuzu, geyik, firavun faresi, tavşan ve deve), *Orthohepevirus B* (başta tavuk olmak üzere kuşlar), *Orthohepevirus C* (sıçan, greater bandicoot, Asya misk faresi, gelincik, vizon) ve *Orthohepevirus D* (yarasa) (Smith ve ark, 2015) (Şekil 1). *Orthohepevirus* cinsi üyelerinin filogenetik yakınlıkları Şekil 2'de gösterilmiştir.

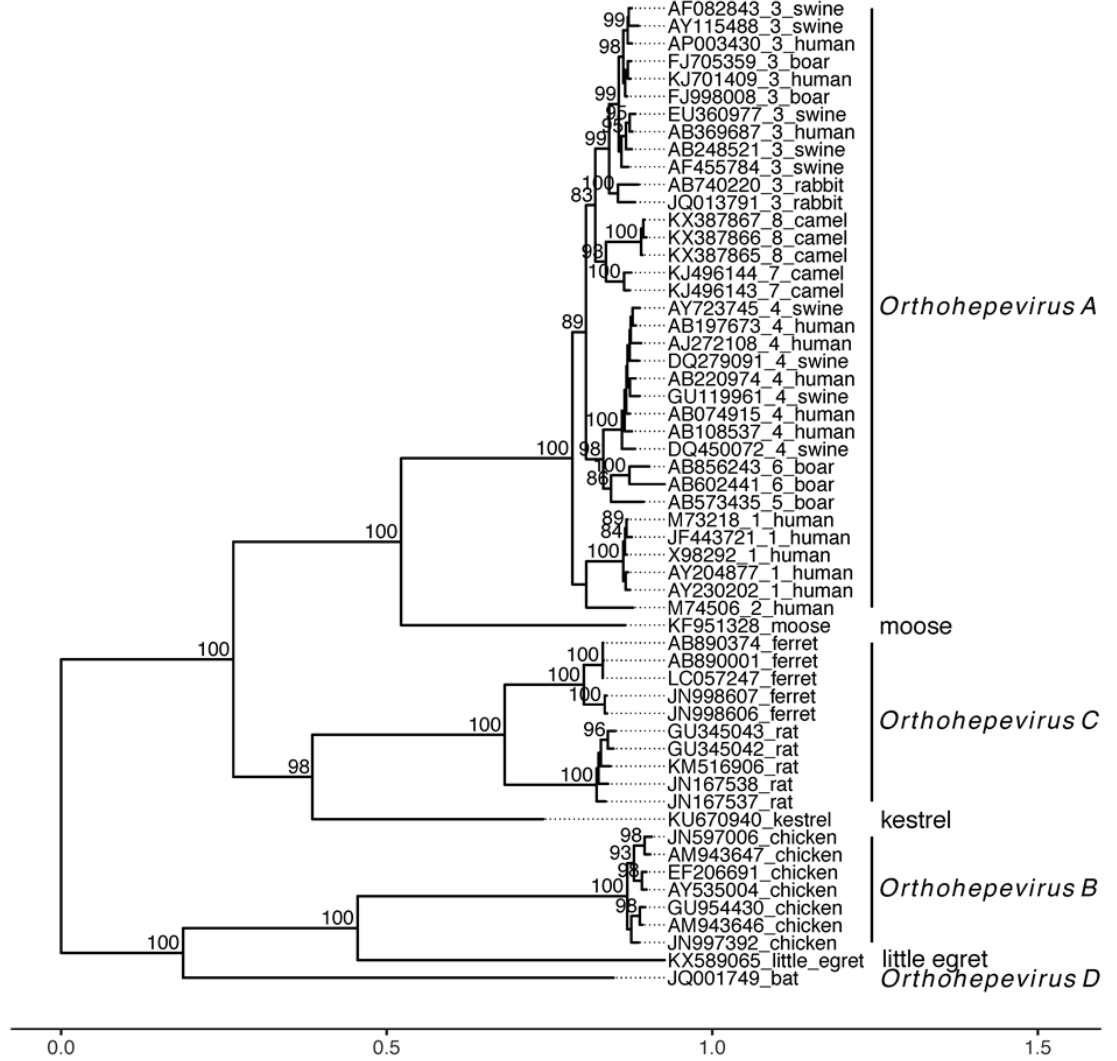
Orthohepevirus A türünde, çeşitli HEV dizileri sekiz genotipe guruplanır (Sridhar ve ark, 2017). Genotip 1 ve 2 sadece insanları enfekte ederken, genotip 3 ve 4 hem insanları hem de birçok hayvan türünü enfekte edebilir. Genotip 5 ve 6 sadece yaban domuzundan, genotip 7 dromedar (tek hörgüçlü) deveden, 8 ise bactrian (çift hörgüçlü) deveden izole edilmiştir (Şekil 1) (Doceul ve ark, 2016).

Familya	Cins	Tür	Genotip	Saptanan tür	
<i>Hepeviridae</i>	<i>Orthohepevirus</i>	<i>Orthohepevirus A</i>	1		
			2		
			3	    	
			4	 	
			5		
			6		
			7		
			8		
		<i>Orthohepevirus B</i>	-		
		<i>Orthohepevirus C</i>	C1	 	
			C2	 	
		<i>Orthohepevirus D</i>	-		
		<i>Piscihepevirus</i>	<i>Piscihepevirus A</i>	-	

Şekil 1. *Hepeviridae* ailesinin taksonomik sınıflandırılması (Pérez-Garcia ve ark, 2015; Woo ve ark, 2016).

Son zamanlarda HEV genotip 3 ve 4 suşlarının türler arası engelleri aşabildiği ve dolayısıyla zoonotik genotipler olduğu kabul edilmiştir (Purcell ve ark, 2008). Ayrıca, deveden izole edilen genotip 7'nin, insanları da enfekte edebildiği belgelenmiştir (Lee ve ark, 2016). Buna karşın, *Orthohepevirus A* genotip 5, 6 ve 8, *Orthohepevirus C* ve *Orthohepevirus D*'nin zoonotik enfeksiyonlara neden olduğu raporlanmamıştır (Şekil 1).

Orthohepevirus B türü içinde bulunan Avian HEV, BLSD'li tavuklardan izole edilmiştir (Haqshenas ve ark, 2001; Payne ve ark, 1999).

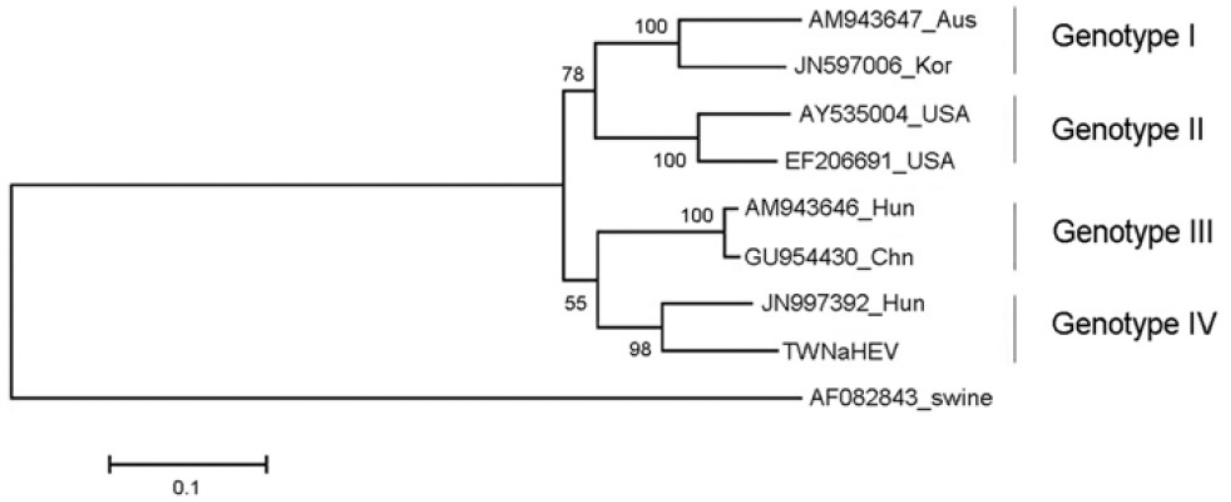


Şekil 2. *Orthohepevirus* cinsinin filogenetik ağacı (ICTV, 10th Report).

Avian HEV genomu yaklaşık olarak %48 oranında memeli HEV'ine benzerlik göstermektedir (Haqshenas ve ark, 2002). Geçmişteki çeşitli çalışmalarda, deneysel koşullarda, avian HEV hindileri enfekte edebilmiş fakat maymun ve domuzları enfekte edememiştir (Sun ve ark, 2004b).

Günümüzde, dünya çapında tek bir serotip içeren dört avian HEV genotipi tanımlanmıştır (Bilic ve ark, 2009; Zhao ve ark, 2010; Gerber ve ark, 2013; Banyai ve ark, 2012; Kwon ve ark, 2012). Genotip 1, Avustralya ve Kore’de; Genotip 2, Kuzey Amerika’da; Genotip 3, Avrupa ve Çin’de; Genotip 4, Macaristan ve Tayvan’da tespit edilmiştir (Banyai ve ark, 2012; Hsu ve ark, 2014; Kwon ve ark, 2012; Marek ve ark, 2010; Smith ve ark, 2014) (Şekil 3).

Su ve ark, 2018 yılında tavuklarda hepatik ruptur sendromuna neden olan beşinci bir aHEV genotipi saptadıklarını bildirmişlerdir.

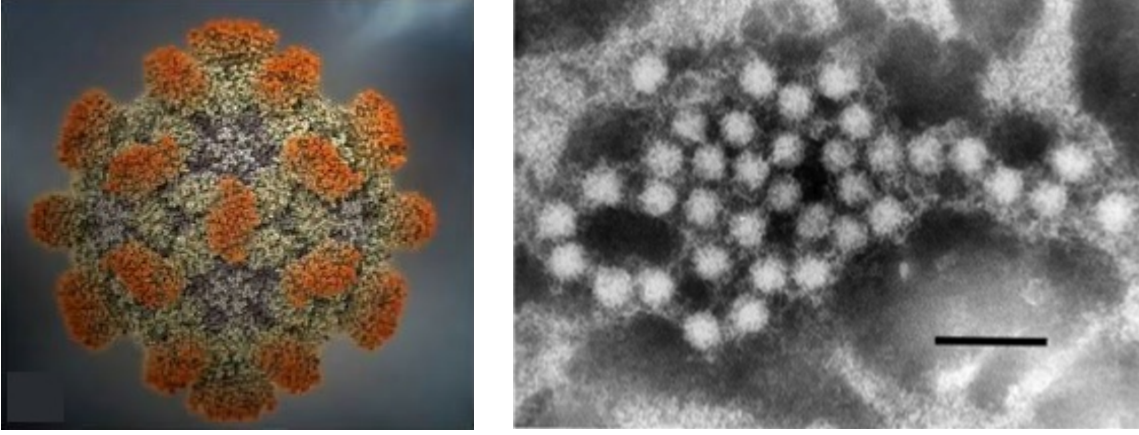


Şekil 3. Sekiz aHEV sekansı ve bir *Orthohepevirus A* türüne ait domuz HEV sekansının filogenetik ağacı (Hsu ve ark, 2014).

2.2.2. Morfoloji ve Genom Yapısı

Hepatitis E virusları küçük, pozitif polariteli ve tek iplikçikli RNA'ya sahip, zarfsız, 27-34 nm çapında, kübik (ikosahedral) simetridir ve yapısal özellikleri bakımından Calicivirüslerle benzerdir (Purcell ve Emerson, 2001; Smith ve Simmonds; 2014). Elektron mikroskop ile bakıldığında, virion yüzeyinde sivri çıkıntılar ve girintiler görülmektedir (Kamar ve ark, 2012; Aggarwal, 2011) (Resim 1). Sedimentasyon katsayısı 183 S'dir. RNA genomu 5'-cap ve 3'-poliadenilatlı olup, yaklaşık olarak 7,2 kilobaz (kb) uzunluğundadır. Genom üzerinde 3 adet

‘open reading frames – açık okunur pencere’ (ORF) ve her iki uçta okunmayan (untranslated region; UTR) bölgeleri bulunmaktadır (Huang ve ark, 2004; Tam ve ark, 1991).



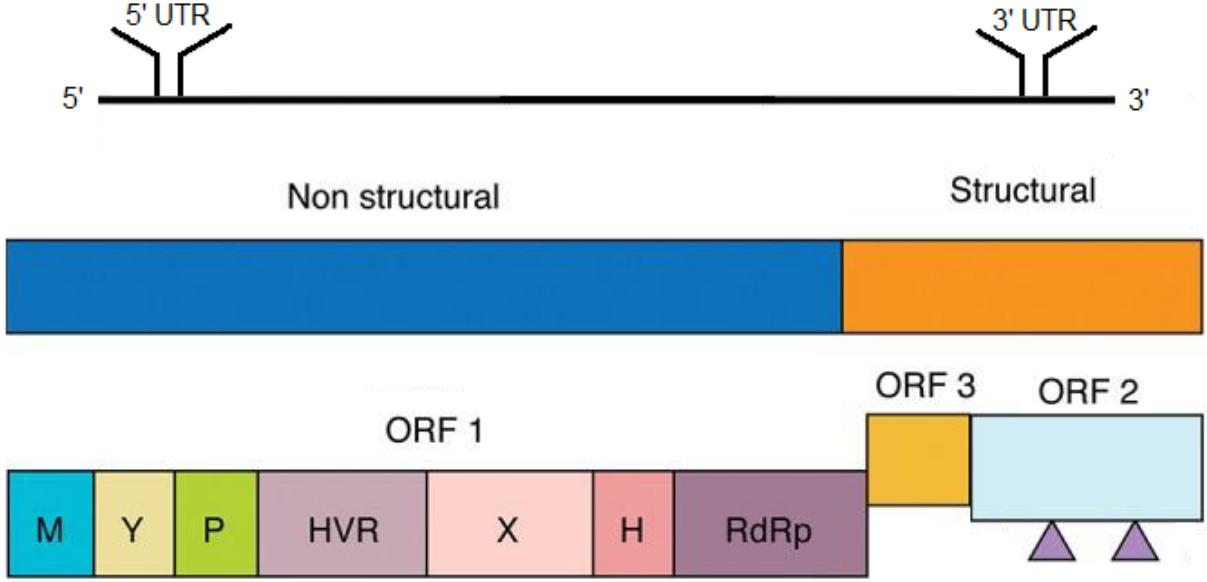
Resim 1. Avian HEV’in üç boyutlu modeli (solda) ve elektron mikroskopuyla görüntüsü (sağda) (www.virology.wisc.edu; Haqshenas ve ark, 2001)

En büyük ORF olan ORF1, 1693 aminoasitten (aa) oluşan büyük polipeptidi kodlar. Bu polipeptidin parçalanmasıyla yapısal olmayan ve virus replikasyonu için gerekli olan metiltransferaz, papain benzeri sistein proteinaz, helikaz, viral replikasyonda rol alan “RNA-bağımlı RNA polimeraz” (RdRp), prolinden zengin Y bölgesi ve alfaviruslarda da bulunan X bölgesi gibi proteinler ortaya çıkar (Chandra ve ark, 2008; Aggarwal, 2013) (Şekil 4).

Metiltransferaz, viral genomun 5’ ucunda cap oluşumunda görev alır ve 5’ metil guanozin parçası HEV enfektivitesinde ve replikasyonunda önemlidir. Papain benzeri sistein proteinaz, proteinlerin ubiquitin aktivitesini engelleyerek proteinlerin hidrolizinde görev alır (Gu ve ark, 2015). Helikaz, nükleozid trifosfataz aktivitesine sahiptir. Ayrıca 5’ – 3’ RNA çift ipliğinin açılmasında rol oynar. RNA-bağımlı RNA polimeraz (RbRp) ise, pozitif iplikçikli diğer RNA viruslarının RbRp’lerine benzer olarak, korunmuş sekiz motif içerir ve viral replikasyonu sağlar. Prolinden zengin Y ve X bölgelerinin fonksiyonları henüz bilinmemektedir.

ORF2, tek yapısal protein olan yaklaşık 72-88 kDa (660 aa) büyüklüğündeki kapsid proteinini kodlar. Kapsid proteini, virionun olgunlaşması ve virus-konak hücre etkileşiminden sorumlu, immünojenik özelliği olan bir proteindir (Panda ve Varma, 2013; Cao ve Meng, 2012; Krain ve

ark, 2014). ORF3 ise ORF1'in bitiminden başlar ve 123 aa büyüklüğündeki düzenleyici fosfoproteinleri kodlar (Kamar ve ark, 2014; Chandra ve ark, 2008).



Şekil 4. HEV genom yapısı ve viral proteinleri (Pérez-Gracia ve ark., 2015).

M: Metiltransferaz; Y: Y zinciri; P: Papain benzeri sistein proteaz; HVR: Çok değişken bölge; X: Makro zincirli X bölgesi; H: Helikaz; RdRp: RNA-bağımlı RNA polimeraz

2.2.3. Dayanıklılık

Avian HEV içeren karaciğer süspansiyonlarında yapılan çalışmalarda; kloroform ve eter ilavesinden sonra virusun enfektivitesi kaybolmazken, 56 °C'de 1 saat inkubasyondan sonra enfektivitesinin kaybolduğu görülmüştür. Virusun enfektivitesinin, % 0,05 Tween 20, % 0,1 NP40 ve % 0,05 Formalin eklendiğinde ise 1000 kata kadar azaldığı tespit edilmiştir (Payne, 2001; Payne, 2003). Ardışık olarak dondurulup çözme ve 100°C'ye kadar ısıtma ile inaktive olduğu görülmüştür. Sıvı nitrojende uzun süre saklanabilir. Çevre koşullarına ve kimyasal ajanlara karşı stabildir. Ancak virus infektivitesi dondurup çözünmeye çok duyarlı olup, +4 ile -20 °C'de titresi hızla düşmektedir. Sindirim yolundaki asidik ve hafif alkali koşullara dirençli

olduğundan, feko-oral yol ile bulaşması kolaydır (Bradley ve ark., 1988; Emerson ve ark, 2005; Cook ve Van del Poel, 2015).

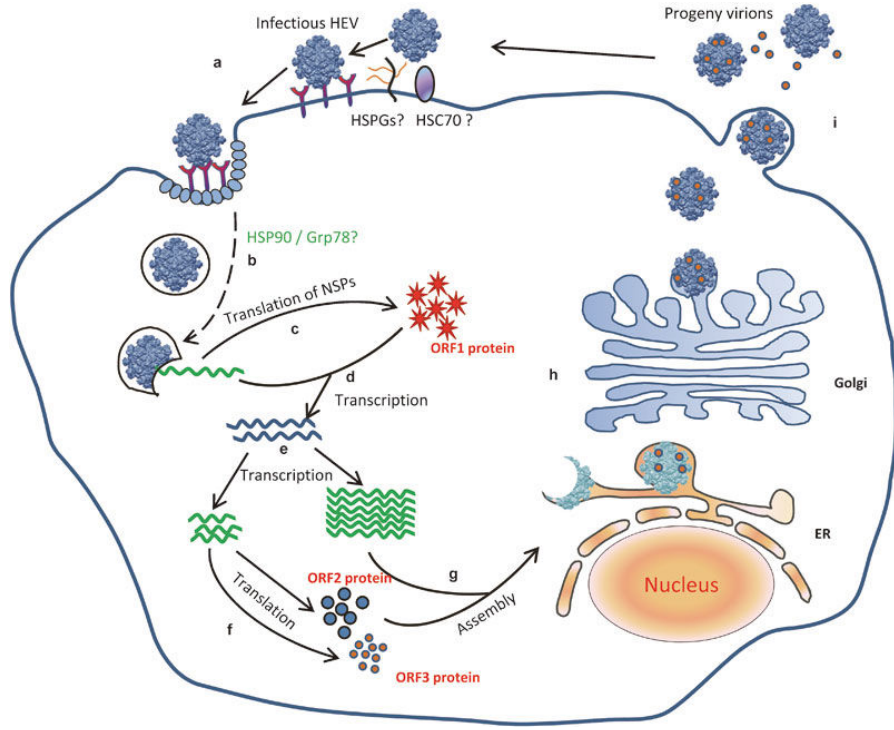
2.2.4. Virus Replikasyonu

Hepatit E virusu için yeterli hücre kültürü sistemi bulunmadığı için, virus replikasyon mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, dizi homolojisi ve diğer ortak özelliklerine dayanılarak, alfaviruslarla benzer olduğu düşünülmektedir.

Yakın zamana kadar virusun hücre reseptörleri anlaşılamamış, ancak günümüzde virus ORF2 bölgesinin C-terminal ucunun, ısı şok proteini (HSP-70/90) ve/veya heparan sülfat reseptörlerine tutunarak, klatriine bağımlı endositoz yoluyla hücre içine girdiği belirlenmiştir (Kalia ve ark, 2009; Kapur ve ark, 2012).

HEV kapsid proteini, hücreye giriş ve replikasyonu başlatmak için hücresele reseptörlere tutunur. Tutunmayı takiben kapsid soyulur ve viral RNA serbest hale geçer. Viral RNA, hücre sitoplazmasında poliribozomlara giderek ORF-1'in translasyonunu gerçekleştirir ve yapısal olmayan poliprotein sentezlenir. Bu poliprotein parçalara ayrılarak fonksiyonel hale gelmesi viral proteaz tarafından gerçekleştirilir. Bu şekilde oluşan RbRp, pozitif iplikli RNA genomundan komplementer negatif iplikli RNA genomunu sentezler. Daha sonra sentezlenen bu ipliği kalıp olarak kullanarak, genomik ve subgenomik pozitif iplikli RNA ipliklerini oluşturur. Bu polimeraz sadece replikasyonun başlangıcında saptanabilir (Panda ve ark, 2000) (Şekil 5).

Subgenomik RNA (mRNA)'lardan ORF2 (yapısal proteinler) ve ORF3 ürünleri sentez edilir. Yapısal proteinler, translasyondan sonra endoplazmik retikulum içine taşınarak endopeptidaz enziminin etkisiyle glikozillenir ve olgunlaşır. Bu işlemden sonra kapsid proteinleri hücre periferine taşınır; burada viral RNA'ların 5' ucuyla etkileşerek genomu paketler ve progeni virionlar hücre dışına çıkarlar (Panda ve Varma, 2013; Cao ve Meng, 2012).



Şekil 5. HEV'in replikasyon şeması (Cao ve Meng, 2012).

a: HEV'in hücre yüzeyine bağlanması ve spesifik hücre reseptörleri aracılığıyla içeri girmesi; b: Kapsid soyulması ve viral RNA'nın serbest hale geçmesi; c: ORF-1'in translatasyonu ve yapısal olmayan polipeptid sentezlenmesi; d: Transkripsiyon; e: Genomik ve subgenomik RNA'ların transkripsiyonu; f: Subgenomik RNA'lardan ORF2 ve ORF3'ün translasyonu; g: Yeni virionların bir araya toplanması; h: Endoplazmik retikulumda olgunlaşma; i: Progeni virionların hücre dışına çıkması

Hepatit E virusunun hücre kültürlerinde üretilmesi zordur. Bu amaçla, hepatik karsinoma (PLC/RF/5) ve akciğer karsinoma hücre kültürleri (A549) kullanılmış ve özellikle genotip 3'ün dışkı ve kan serumu örneklerinden izolasyonunda başarılı sonuçlar alınmıştır (Okamoto, 2013). Kültür sistemlerinden elde edilecek veriler, HEV'in replikasyon döngüsü ve moleküler biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

2.3. Epidemiyoloji

Genel olarak Hepatitis E viruslarına karşı antikorlar bugüne kadar maymun, domuz, tavuk, koyun, keçi, sığır, kedi, sıçan ve fareler de dahil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinde tespit edilmiştir.

Japonya'da, çiğ domuz karaciğeri ve geyik eti tükettikten sonra HEV ile enfekte olan hastalardan tanımlanan sekanslar, çiğ etlerden alınan virusla özdeş veya hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler, genotip 3 ve 4 suşları gibi HEV'in en azından bazı suşlarının tür bariyerlerini aşabileceğini ve diğer türleri enfekte edebildiğini göstermiştir (Takahashi ve ark, 2004; Tei ve ark, 2003; Yazaki ve ark, 2003). Sonuç olarak, hepatitis E zoonoz bir hastalıktır denilebilir.

Vietnam'da yapılan bir araştırma, insan HEV antikorunun, tavukların %44'ünde yaygın olarak görüldüğünü ve HEV'in tavuklara da bulaşabileceğini ortaya koymuştur (Tien ve ark, 1997).

Avian HEV enfeksiyonu için tavuklar, doğal koşullarda bilinen tek rezervuardır. Deneysel koşullarda her yaştaki tavuğun enfeksiyona duyarlı olduğu görülmüştür (Billam ve ark, 2005;2006; Huang ve ark, 2005).

Domuz ve insan HEV'leri gibi, farklı coğrafik bölgelerde bulunan aHEV izolatları da heterojeniktir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2003;2004a). Avian HEV'in deneysel olarak hindileri enfekte edebildiği ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, insan olmayan primatlara deneysel bulaştırmada başarılı olunamamıştır (Huang ve ark, 2004; Sun ve ark, 2004a). Ayrıca tavuklarla aynı ortamda tutulan ördek, kaz ve tavşanlarda da anti-aHEV antikorları saptanmıştır (Liu ve ark, 2018).

2002 yılında Amerika'da 5 eyaletteki (California, Colorado, Connecticut, Virginia, Wisconsin) 76 farklı sürüden, farklı yaş ve ırklarda toplam 1276 tavuk üzerinde yapılan araştırmaya göre; aHEV seropozitiflik oranı %71 bulunmuştur (Huang ve ark, 2002). Etkenin, feko-oral yol ile sürüler arasında kolayca yayıldığı görülmüştür (Meng ve ark, 2008). Yaşa bağlı olarak; 18 haftalıktan küçük tavukların %17'si anti-HEV antikoru yönünden pozitifken, yetişkinlerin %36'sı seropozitifdir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004).

Kafes yetiştiriciliğinde Leghorn türü tavuklarda, virusun çiftlikte dolaşımı nedeniyle sıklıkla hastalıklar ortaya çıkmıştır (Meng ve ark, 2013; Ritchie ve Riddell, 1991).

Broiler damızlık tavuklar ve daha küçük sürüler, özellikle enfeksiyon geçişini kolaylaştıran altlıkların kullanıldığı çiftliklerde, aHEV sporadik ölümlere yol açabilir (Huang ve ark, 2002).

Sun ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada, sağlıklı bir çiftlikten alınan 12 haftalık seronegatif tavukların 21 haftalık olduktan sonra seropozitif bulunduğunu kaydetmişlerdir. Hsu ve Tsai (2014) tarafından yapılan çalışmalarda damızlık tavuklarda seropozitiflik oranını % 34,31 (294/857), yumurtacı tavuklarda ise % 52,03 (244/469) olarak saptamışlardır. Bu çalışmalardan yola çıkarak aHEV enfeksiyonlarının tavuklar arasında subklinik yayılma gösteren enzootik bir hastalık olduğu söylenebilmektedir.

Billam ve ark. 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada, SPF tavuklar, deneysel olarak hem damar içi hem de oronazal yolla aHEV-enfekte edilebilmiştir. Embriyolu tavuk yumurtalarının ise sadece damar içi inokülasyonla enfeksiyona duyarlı olduğu görülmüştür. Avian HEV'in, SPF hindilere bulaşması da mümkündür (Sun ve ark, 2004b).

Liu ve ark. 2018 yılında Çin'de avianHEV enfeksiyonunun prevalansını araştırmak için ortak bir alanda yaşayan tavuk, ördek, kaz ve tavşandan oluşan karışık bir hayvan grubundan serum, dışkı ve safra örnekleri toplayarak yaptıkları çalışmada; tavuklarda 20/57, ördeklerde 9/30, kazlarda 6/24 ve tavşanlarda 8/16 oranında anti-avianHEV antikoları için seropozitiflik bulunmuştur.

Matczuk ve ark. (2019) tarafından, Polonya'da yumurtacı ve damızlık broiler sürülerinden topladıkları 1034 adet serum örneği ile anti-aHEV antikoları yönünden araştırılmıştır. Rastgele seçilen örneklerle yapılan seroloji çalışmasında sürülerin %56.1'inde pozitiflik saptandığını bildirilmiştir. Seroprevalans yumurtacı tavuk sürülerinde, damızlık broilerlere göre daha yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada kısmi ORF1 ve ORF2 dizilerinin filogenetik analizinde, elde edilen tüm izolatların aHEV genotip 2'ye ait olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma, Genotip 2'nin Orta Avrupa'da ilk tespit edildiği çalışmadır.

2.4. Patogenez

Avian HEV'in patogenezini hakkındaki mevcut bilgiler sınırlıdır. Oronazal inokülasyon yoluyla kontamine dışkıyla direkt temasla alınan virus, konakçıya girdikten sonra birincil bölgede replikasyonun gerçekleştiği gastrointestinal dokulara gider (Billam ve ark, 2005; 2008). Deneysel enfekte tavukların sekum ve kolonunda, enfeksiyondan beş gün sonra virus saptanabilmektedir.

Gastrointestinal dokulara giriş ve replikasyon sonrasında, virus replikasyonunun ikincil bölgesi olan karaciğere gider. Burada hepatositlerden safra kesesine salınır (Williams ve ark, 2001; Yugo ve ark, 2016). Safra kesesi, normal sindirim sırasında enfeksiyöz aHEV ile kontamine içeriği, dışkı yoluyla atılmak üzere ince bağırsağa aktarır (Chandra ve ark, 2008; Meng, 2011).

Avian HEV ile deneysel olarak enfekte edilmiş SPF (Specific Pathogen Free) tavuklarda, karaciğer dışında kolon, sekum, jejunum, ileum, duodenum ve sekal tonsiller gibi ekstrahepatik dokularda da virusun replike olduğu tespit edilmiştir (Billam ve ark, 2006). Bu da, Avian HEV'in yalnızca karaciğerde değil gastrointestinal sistemde de çoğaldığını göstermektedir. HEV'in primer hedef hücresi hepatositlerdir. Ancak hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, maymunlarda biliyer epitelyum hücrelerini; domuzlarda ise ince bağırsak, dalak, lenf yumruları, kolon ve periferik kan monositlerini de enfekte ettiği görülmüştür. Karaciğer dışındaki dokularda virus replikasyonunun ve bunların bulaşmadaki öneminin anlaşılması, virusun yayılmasının anlaşılmasında ve azaltılmasında büyük önem taşır (Panda ve Varma, 2013; Cao ve Meng, 2012).

2.5. Klinik ve Patolojik Bulgular

Avian Hepatit E Enfeksiyonu, yumurtacı tavuklar ve broiler damızlıkların bir hastalığı olarak görülmektedir. Oronazal bulaşmada, enfeksiyon başlangıcından virusun dışkıyla saçılmasına kadar olan inkübasyon periyodu 1 – 3 hafta arasında değişmektedir (Billam ve ark, 2005).

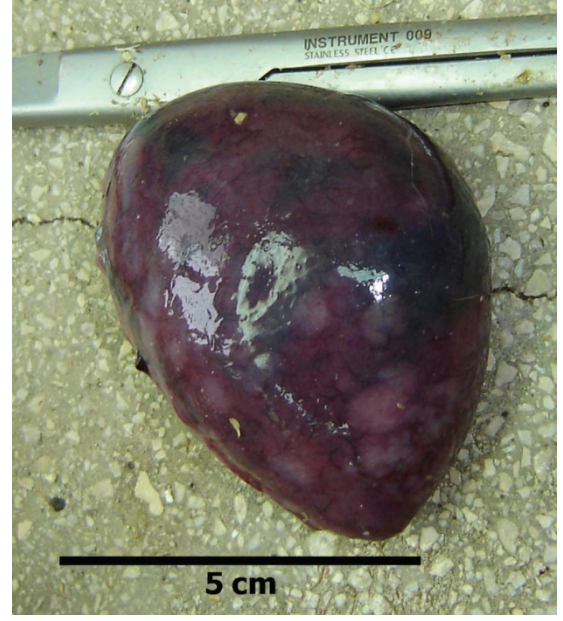
Tavuklar, etkene her yaşta duyarlı olmalarına rağmen, klinik belirtiler 24 haftalıktan daha büyük tavuklarda gözlenmektedir (Haqshenas ve ark, 2001). Genellikle 30 – 72 haftalık yumurtacı tavuklarda yüksek mortalite ile seyretmektedir ve en yüksek insidans 40-50 haftalık

yaş aralığındadır (Riddell, 1997; Shivaprasad ve Woolcock, 1995). Haftalık ölüm oranı % 1'e kadar artış gösterebilir.

Genişlemiş karaciğer ve dalak, subkapsüler karaciğer kanaması ve viseral boşluklarda kanlı sıvı varlığı, avian HEV enfeksiyonunun tipik patolojik bulgularıdır. Bunların yanında; gelişme geriliği ve yumurta veriminde %20 azalma görülmektedir (Sun ve ark, 2004a; Peralta ve ark, 2009). Çoğu vakada; uyuşukluk, anoreksi, ibikte solgunluk, tüylerde dökülme, seksüel olgunlukta gecikme, verim düşüklüğü ve peritonit bulguları da gözlenir (Crerar ve Gross, 1994a;b; Handler ve Williams, 1988; Payne, 2001; Riddell, 1997; Agunos ve ark, 2006). Etkilenen sürülerde küçük, ince kabuklu ve açık renkli yumurtalar gözlenirken; bu yumurtaların iç kalitesi ve fertilitésinin etkilenmediği bildirilmektedir (Payne, 2001;2003).

Deneysel olarak damar içi veya oronazal inokülasyonu takiben 1-4 hafta arasında seropozitiflik saptanmaktadır (Sun ve ark, 2004a). Avian HEV ile enfekte edilen tavuklarda, karaciğer hastalıklarının klinik patolojik parametreleri olan aspartat aminotransferaz, albümin/globülin oranları veya safra asitleri artışı görülmemiştir. Bununla birlikte; intravenöz yolla enfekte tavuklarda laktat dehidrojenaz (LDH) değerlerinde artış görülmüştür (Billam ve ark, 2005).

Lapina ve ark. (2013) Rusya'da yüksek mortalite gözlenen bir tavuk çiftliğinde yaptıkları taramada aHEV'li tavukların aspartat aminotransferaz aktivitesinde %25,8'lik bir artış ve laktat dehidrojenazda iki kattan fazla artış olduğunu ve bunun da hepatositlerin nekrozuna neden olabilecek kadar şiddetli bir karaciğer hasarına işaret ettiğini bildirmişlerdir. Kreatinin miktarının yaklaşık 7 kat azaldığı bulunmuştur. Bunun kaslarda düşük ATPaz sentezinden kaynaklandığı varsayılmaktadır. Aynı çalışmada, karaciğer hacmi önemli ölçüde (4-6 kat) artmış, açık sarı renkte olup konsolidasyon odaklı hamurlu bir doku gözlenmektedir. Bazı tavuklarda 2 cm çaplı subkapsüler kanamalar gözlenmiştir. Bazılarında ise karaciğer parankimasının ezilmiş ve kapsülden soyularak ayrıldığı gözlenmiştir. Bütün tavuklar serosanguinözdür, bazılarında da fibrinöz peritonit vardır. Aynı zamanda akciğer ödemi, endoesophagit, kanamalı kataral duodenit, konjestif hiperemi ile böbreklerde dejenerasyon, kanamalı seröz salpenjit ve mide duvarı kaslarında yağ infiltrasyonu saptanmıştır.

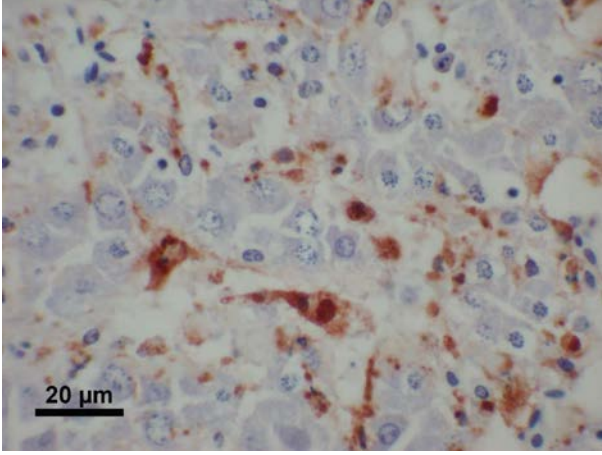


Resim 2. 42 haftalık broiler damızlığına ait genişlemiş ve hemorajik karaciğer (solda) (Yugo ve ark, 2016).

Resim 3. Genişlemiş dalak (sağda) (Handler & Williams, 1988).

Nekropside, yumurtalıklarda gerileme; büyümüş, hemorajik ve nekrotik karaciğer (Resim 2); genişlemiş dalak (Resim 3) ve karın boşluğunda kanlı sıvı gözlenmektedir (Haqshenas ve ark, 2001; Huang ve ark, 2002; Meng ve ark, 2008; Sun ve ark, 2004a). Deneysel aHEV enfeksiyonlarında, otopside benzer lezyonlar gözlenmekte ve yaklaşık %25'inde genişlemiş, hemorajik karaciğer görülmektedir (Billam ve ark, 2005).

Tavuklarda doğal ve deneysel enfeksiyonların mikroskopik değerlendirilmesinde, karaciğer parankimindeki inflamatuvar hücre infiltrasyonları (Resim 4) ve karaciğer lenfositik periflebiti gözlenmektedir (Billam ve ark, 2005). Hepatositler, genellikle interstisyel eozinofilik amiloid birikimiyle ayrılmışlardır (Billam ve ark, 2005; Tablante ve ark, 1994).



Resim 4. Karaciğer parankiminin sinüzoidal hücrelerinde BLSD virus antijeni (Morrow ve ark, 2008)

2.6. Immunité

Avian HEV enfeksiyonunu takiben ortaya çıkan Ig G antikorları, tavuklarda humoral bağışıklığın varlığını gösterir (Billam ve ark, 2005; Sun ve ark, 2004a), ancak hücresel bağışıklık ile ilgili bir bilgi vermez.

Avian HEV'in intravenöz veya oro-nazal yolla inokülasyonunu takiben 1-4 hafta içinde tavuklar serokonvert olurlar (Sun ve ark, 2014).

Humoral bağışıklık, memeli HEV'lerindeki gibi çoğunlukla kapsid proteinin indüklemesi sonucu oluşmaktadır (Bryan ve ark, 1994; Zhou ve ark, 2005). Çeşitli çalışmalarda, ORF2 kapsid proteininin HEV enfeksiyonunu önlemek için nötralize edici antikorlar indükleyebildiği ortaya çıkarılmıştır (Emerson ve ark, 2006; Schofield ve ark, 2000-2003; Meng ve ark; 1998-2001).

Rekombinant HEV kapsid proteinlerinin in vitro analizi, avian HEV kapsidi ile insan ve domuz HEV'ine karşı geliştirilen antiserumlar arasındaki çapraz reaksiyonu ortaya koymuştur (Guo ve ark, 2008).

Böcek hücrelerinde eksprese edilen insan HEV ORF2 proteini ile aşılınmış Rhesus maymunlarında, HEV enfeksiyonu ve hepatit gelişimi önlenmektedir (Li ve ark, 2004; Emerson ve Purcell, 2001; Zhang ve ark, 2001-2002). Büyük nötralize edici epitopları içeren

insan HEV rekombinant ORF2 proteini, Nepal’de bir saha araştırmasında aşı olarak kullanılmıştır (Purcell ve ark, 2003).

Avian HEV kapsid proteininde 4 tane (I, II, III, IV) varsayılan antijenik alan tanımlanmıştır. Son zamanlarda Guo ve ark. (2006), alan II’nin C-terminal ucunda (aa 477-492 arasında) aHEV’e spesifik bir B-hücresi epitopu; alan I’de (aa 389-410 arasında) kuş, insan ve domuz HEV’lerinde ortak bir B-hücresi epitopu ve alan IV’de kuş ve insan HEV’lerinde ortak birden fazla B-hücresi epitopu tespit etmişlerdir. şimdiye kadar tanımlanan bütün HEV suşlarının tek bir serotipe ait olduğu bilinmektedir.

Syed ve ark. (2017), aHEV enfeksiyonuna karşı tavuklarda immün koruma çalışması yapmışlardır. E. Coli’den eksprese edilen kesilmiş aHEV ORF2 proteini ve rekombinant ORF3 proteini ile ayrı ayrı immunize edilen tavuk grupları viremi, dışkı ile virus saçılımlı, serokonversiyon ve genel karaciğer lezyonları açısından değerlendirildi. ORF2 proteini ile immunize edilen tavuklarda aHEV enfeksiyonu belirtileri görülmezken, ORF3 proteini ile immunize edilen grubun yarısında viremi ve fekal virus atılımı saptandı. Buna dayanarak, ORF2 proteini aHEV enfeksiyonuna karşı tam immün koruma sağlarken, ORF3 proteini sadece kısmi immün koruma sağladığı öngörülmektedir. Bu, bir bakteri sisteminde eksprese edilen rekombinant aHEV ORF3 proteininin tavukları aHEV enfeksiyonuna karşı kısmen koruduğunu gösteren ilk rapordur. Bu sonuçlar, aşı gelişimini kolaylaştırmak ve kanatlıların HEV enfeksiyonunu önlemek için enfeksiyonun kinetiğini ve virusun doğal konakdaki immün tepkisini anlamaya yardımcı olmaktadır.

2.7. Tanı

HS sendromunun varsayımsal tanısı, klinik belirtiler ile makroskobik ve mikroskobik lezyonlara dayanarak yapılabilir. Bununla birlikte, benzer semptomlar görülen diğer hastalıklardan ayrılmalıdır. Karın boşluğunda pıhtılaşmış kan varlığı ve karaciğerdeki hemorajilerin varlığı durumunda HS sendromu ile Hemorajik Yağlı Karaciğer Sendromu (HFLS) birbirinden ayrılmalıdır. HS sendromunda karaciğerde yağlanma gözlenmemektedir. Karın boşluğunda veya karaciğer çevresinde pıtılaşmış kan, rodentisit zehirlenmelerinde de gözlenebilir.

Negatif kontrast elektron mikroskobu ile HS sendromlu tavukların safra içeriklerinde 30-35 nm'lik virus partikülleri tespit edilebilir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004a).

Avian HEV hücre kültüründe üretilip çoğaltılamamasına rağmen embriyolu tavuk yumurtaları damar içi inokülasyonla deneysel olarak enfekte edilebilir. Fakat tavuk embriyolarında virus izolasyonu teknik zorluklar ve damar içi inokülasyonun yüksek mortaliteye neden olmasından dolayı pratik değildir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004a).

Günümüzde, aHEV enfeksiyonunun tanısı RT-PCR ile virus RNA'sının ve ELISA ile virusa karşı antikorların saptanmasına dayanmaktadır (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004a). Buna rağmen bu testlerin duyarlılığı ve spesifitesi tam olarak bilinmemektedir.

Tavuklarda aHEV antikorlarını tespit etmek için, aHEV kapsid proteininin bir bölümü eksprese edilerek bir ELISA'da kullanılmıştır (Billam ve ark, 2005; Haqshenas ve arki 2002; Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004a).

Avustralya'da aHEV enfeksiyonunu saptamak için, etkilenen tavukların dalak ve karaciğerlerinden ekstrakte edilen saflaştırılmış antijeni kullanan bir AGID ve bir ELISA testi geliştirilmiştir (Ellis ve ark, 1995; Payne ve ark, 1999; Todd ve ark, 1993).

Akut aHEV enfeksiyonu taramasında, serolojik testler tek başına yetersizdir. IgG antikorları, akut viremi ve dışkıyla virus saçılması sonrasında saptanabilir. Ayrıca testlerde seronegatif çıkan hayvanlar da enfekte olabilir (Billam ve ark, 2005; Sun ve ark, 2004a).

Tavuklarda aHEV enfeksiyonunu başarılı bir şekilde saptayabilen aHEV-spesifik RT-PCR testi geliştirilmiştir. Bununla birlikte, farklı coğrafi bölgelerdeki tavuklarda saptanan aHEV suşları genetik olarak heterojen olduğundan, bu testin spesifitesi bilinmemektedir (Billam ve ark, 2005; Sun ve ark, 2004a; Huang ve ark, 2002; Kasorndorkbua ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004b).

Farklı coğrafi bölgelerdeki tavuklardan elde edilen farklı aHEV suşlarının genetik identifikasyonu ve karakterizasyonu, bütün aHEV suşlarını saptayabilen evrensel bir RT-PCR testi geliştirilmesinde önemli bir rol oynayacağı düşünülmektedir. Genetik açıdan aHEV suşlarını tanımlamakta pre-sekans aracı olarak kullanılacak bir heterodupleks hareketlilik testi geliştirilmiştir (Payne, 2003). Avian HEV kapsid proteinine özgü antijenik epitopların tanımlanması kuş, domuz ve insan HEV'lerinin neden olduğu enfeksiyonlarında ayırıcı tanı testlerinin gelecekteki gelişimini sağlayacağı düşünülmektedir (Guo ve ark, 2006).

Günümüzde araştırma amaçlı (Reverse Transcriptase) RT-PCR ve ELISA kitleri olsa da, ticari hızlı teşhis kiti henüz bulunmamaktadır.

2.8. Koruma – Kontrol

Avian HEV, 15 yıldan daha uzun süre önce keşfedilmiş olsa da; hala bilinmeyen pek çok yönü vardır. Günümüzde HEV'i üretebilecek bir hücre kültürü sisteminin bulunmaması, virusun biyolojisinin ve patogenezinin tam olarak bilinmesine engel olmaktadır. Bu nedenle, aHEV'e karşı henüz bir aşı bulunmamaktadır.

Tavuklarda koruyucu bağışıklık oluşturmak için kapsid proteini (aHEV ORF2) kullanılmıştır (Guo ve ark, 2007). Rekombinant aHEV kapsid antijenleri ile aşılanmış tavuklar, aHEV'e karşı tam koruma geliştirmişlerdir (Guo ve ark, 2008). Guo ve ark. (2007) tarafından aHEV kapsid proteini (aHEV ORF2) kullanılarak tavuklarda koruyucu bağışıklık oluşturma denemeleri yapılmıştır. Aynı araştırmacılar daha sonra rekombinant aHEV kapsid antijenleri ile aşılanmış tavuklar, aHEV'e karşı tam koruma geliştirmişlerdir (Guo ve ark, 2008).

Spesifik B-hücrelerinde bulunan Avian HEV kapsid proteini epitoplalarının belirlenmesi, gelecekteki aşı ve tanısal immunoassaylerin geliştirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir (Guo ve ark, 2006). Geliştirilmiş bir aşı olmadığından, çiftliklerde sıkı biyogüvenlik önlemleri ve daha iyi hijyen uygulamaları enfeksiyonun yayılmasını önlemeye yardımcı olacaktır.

Şimdiye kadar sadece birkaç ülkeden beş genotip tanımladığı için, Avian HEV enfeksiyonunun dünyadaki yayılımı ve genetik çeşitliliği hakkında detaylı bilgi bulunmamaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kan Serumu Örnekleri

Bu araştırmada, aHEV enfeksiyonu varlığının ve yaygınlığının araştırılması amacıyla Ege Bölgesi Aydın, İzmir, Manisa, Denizli, Muğla ve Uşak illerinde bulunan çeşitli işletmelerden tesadüfi örnekleme yoluyla broiler, broiler damızlık, yumurtacı ve yumurtacı damızlık tavuklara ait kan serumu örnekleri temin edildi. Kan serumu örnekleri hayvanların buldukları illere, yetiştirme türlerine ve yaşlarına göre gruplandırıldı. Örnekleme 2017 Aralık – 2018 Aralık ayları arasında gerçekleştirildi. İllere ve yetiştirme türüne göre örnek sayıları tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Aydın, İzmir, Uşak, Denizli, Muğla ve Manisa illerinden alınan yetiştirme türüne göre örnek sayıları

Şehir	Broiler Damızlık	Broiler	Yumurtacı Damızlık	Yumurtacı	Toplam
Aydın	-	68	-	-	68
İzmir	365	165	20	146	696
Uşak	300	54	-	-	354
Denizli	-	89	-	158	247
Manisa	283	54	-	59	396
Muğla	-	60	-	-	60
Toplam	948	490	20	363	1821

Toplamda 106 kümeden, 1821 adet kanatlı olmak üzere; 948 broiler damızlık, 490 broiler, 20 yumurtacı damızlık ve 363 yumurtacıdan kan serumu örneği toplandı. İllere göre örnekleme; Aydın ilinden 68 broiler; İzmir ilinden 365 broiler damızlık, 165 broiler, 20 yumurtacı damızlık, 146 yumurtacı; Uşak ilinden 300 broiler damızlık, 54 broiler; Denizli ilinden 89 broiler, 158 yumurtacı; Manisa ilinden 283 broiler damızlık, 54 broiler, 59 yumurtacı; Muğla ilinden 283 broiler damızlık, 54 broiler, 59 yumurtacı olarak dağılmıştır.

Aydın, İzmir, Uşak, Denizli, Muğla ve Manisa illerinde bulunan 27 adet işletmedeki, 106 farklı kümeden örnek toplanmıştır. Toplanan örneklerin yetiştirme türleri ve yaşlarına göre örnek sayıları tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Örnek alınan hayvanların yetiştirme türüne ve yaşlarına göre sayıları

Yaş aralıkları	Broiler Damızlık	Broiler	Yumurtacı Damızlık	Yumurtacı	Toplam
0 – 45 gün	142	490	-	15	647
17 – 30 hafta	165	-	-	145	310
31 – 70 hafta	641	-	20	203	864
Toplam	948	490	20	363	1821

Çalışmada kullanılan örnekler çeşitli kanatlı işletmelerinin kesimhanelerinden rutin kontrol veya teşhis amaçlı alınan ve kanatlı teşhis laboratuvarına gönderilen kan serumu örneklerinden tesadüfi olarak seçildi. Kan serumu örnekleri, broilerlerden kesimhanede kesim esnasında 5’er ml, damızlık hayvanlardan ise kümeste çiftlik yetkili veteriner hekimleri tarafından tavukların kanat alt yüzeyindeki venasından 2’şer ml olmak üzere kaolinli tüplere alındı ve soğuk zincir altında laboratuvara gönderildi. Laboratuvarda, kan serumu örnekleri 1700 g’de 30 dk santrifüj edildikten sonra, serumları ayrılarak ependorf tüplere alındı ve testler yapılana kadar -20°C’de saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Toplanan serum örneklerinde, aHEV'e karşı spesifik antikor varlığı ve antikor titreleri ticari BLS Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (The Big Liver and Spleen Disease Antibody test Kit®, BioChek, Berkshire, United Kingdom) ile test edildi. Test üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı.

Testin çalışma prensibi ve yapılışı şu şekildedir: BLS ELISA kiti tavukların serumundaki BLS'ye (Avian Hepevirus) yani aHEV'e karşı oluşan antikorların miktarını ölçmektedir. Mikrotitre pleytleri inaktive edilmiş aHEV antijenleri ile kaplanmıştır. Tavuk serum numuneleri sulandırılarak kuyucuklara bırakılır ve aHEV'e karşı antikoru bulunması durumunda antijen – antikor kompleksi meydana gelir. Spesifik olmayan antikorlar ve diğer serum proteinleri yıkılarak ortamdaki uzaklaştırılır. Yıkamadan sonra kuyucuklara alkaline fosfatase enzimi ile işaretlenmiş anti – tavuk IgG'ler eklenir ve antijenlere bağlanmış tavuk anti-BLS antikorlarına bağlanır. Reaksiyona girmemiş konjugatların uzaklaştırılması için yapılan diğer yıkama işleminden sonra pNPP kromojen formatında bir substrat eklenir. Eğer aHEV'e karşı antikor mevcut ise sarı renk oluşur. Sarı rengin yoğunluğu numunedeki aHEV spesifik antikor miktarı ile doğru orantılıdır.

3.2.1.1. Kit İçeriği ve Kullanılan Malzemeler

1. aHEV antijeni kaplanmış pleytler: Mikrotitre pleytlerde inaktif aHEV antijeni.
2. Konjugat reagent: Anti-tavuk: Tris buffer içerisinde protein stabilizör ile birlikte Alkaline fosfatase, inert kırmızı boya ve sodyum azide koruyucu (0,1 % W / V).
3. Substrat tabletleri: Substrat Buffer ile çözündürülmek üzere pNPP (p-Nitrophenyl Fosfat) tabletleri.
4. Substrat Buffer (Substrat tampon): Enzim kofaktörleri ile birlikte Dietanolamine buffer.
5. Stop Solution (Durdurma solusyonu) : Dietanolamin içerisinde sodyum hidroksit.

6. Sample diluent reagen (Örnek sulandırma reagenti) : Protein stabilizörlü ve sodyum azit koruyuculu Fosfat buffer.
7. Wash buffer sachet (Yıkama tampon saşe): Tween’li tozlaştırılmış Fosfat buffer saline.
8. Negatif kontrol. Protein stabilizörlü ve sodyum azit koruyuculu, fosfat buffer içerisinde spesifik patojenlerden ari serum.
9. Pozitif kontrol. Protein stabilizörlü ve sodyum azit koruyuculu, fosfat buffer içerisinde aHEV spesifik antikorlar (0,1% W / V).

Bunların dışında; pipetlik ve tek kullanımlık pipet uçları, 8 yada 12 kanallı pipet, numune dilasyonları için plastik tüpler, deiyonize su, 405 nm filtrelili mikrotitre pleyt okuyucu ve mikrotitre pleyt yıkayıcı kullanıldı.

3.2.1.2. Testin Uygulanışı

Test numuneleri hazırlanırken tavuk serum örnekleri 1:500 oranında sulandırıldı. Negatif kontrol, pozitif kontrol ve sulandırılmış serum örnekleri, inaktive edilmiş aHEV antijeni ile kaplanmış mikropleyt kuyucuklarına ayrı ayrı usulüne uygun olarak eklendi; Pleytlerin A1 ve B1 çukurlarına negatif kontrol serumu, C1 ve D1 çukurlarına pozitif kontrol serumu ve diğer kuyucuklara ise sulandırılmış serum örnekleri 100’er µl konuldu. Pleyt oda sıcaklığında 30 dakika inkubasyona bırakıldı. Böylece, serum örnekleri aHEV’e karşı antikor içermesi durumunda pleyt kuyucuklarındaki aHEV antijenlerine bağlanarak antijen-antikor kompleksleri oluşturuldu.

Kuyucukların içerikleri boşaltılarak 4 kez yıkama solüsyonu (her bir kuyucuk için 350 µl) ile yıkandı. Pleytler kurutma kâğıtlarına ters çevrilerek yıkama solüsyonu tamamen boşaltıldı. Pleytin yıkanması sonucunda non-spesifik antikorlar ve diğer serum proteinleri ortamdaki uzaklaştırıldı. Daha sonra pleytlerin her bir kuyucuğuna 100’er µl konjugat eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu işlemle enzimle işaretli konjugatın orijinal tavuk aHEV antikorlarına bağlanması sağlandı.

Tekrar her bir çukur 4 kez yıkandı. Bu yıkama işlemi ile anti-BLS antikorlarına bağlanmayan konjugat ortamdaki uzaklaştırıldı. Yıkama işlemini takiben her çukura 100 µl

substrat eklenerek, 15 dakika oda ısısında bekletildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde stop solüsyonu eklendi. Oluşan sarı renk, serum örneklerindeki antikor miktarına bağlı olarak yoğunluk göstermekteydi.

3.2.1.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Testi değerlendirmek ve antikor titrelerini hesaplamak için oluşan rengin optik yoğunluğu ELISA okuyucusunda (Biotek Absorbance Microplate Reader, ELx808) okundu.

Yaşlarına göre ayrılmış broiler, broiler damızlık, yumurtacı ve yumurtacı damızlık serumlarına ait ELISA testi sonuçları ve antikor titreleri ELISA kitini üreten Biochek'e ait yazılım programı (BioChek Software programme) ile hesaplandı.

Üretici firmanın öngördüğü üzere, testin geçerli olması için ortalama negatif kontrol absorbansı 0,30'un altında ve ortalama negatif kontrol ile ortalama pozitif kontrol farkı 0,15'ten büyük olması gerekmektedir.

Serum numunelerindeki antikorların rölatif miktarları, pozitif kontrol referans alınarak, örneğin optik değerinin pozitif kontrolün optik değerine oranı (S/P oranı) şeklinde hesaplandı.

S/P oranının hesaplanması:

S: (Örneklerin optik yoğunluk ortalaması-Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması)

P: (Pozitif kontrolün optik yoğunluk ortalaması-Negatif kontrolün optik yoğunluk ortalaması)

Test prosedürüne göre, S/P oranı 0,2 ya da daha fazla anti-BLS antikorlu içeren numuneler pozitif olarak kabul edildi.

Antikor titresinin hesaplanması:

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

$\text{Log}_{10} \text{Titre} = 1,1 * (\text{Log}_{10} \text{S/P}) + 3,361$

Antilog = Titre değeri (1:500 sulandırmasındaki bir örneğin)

S/P değeri	Titre aralığı	Antikor durumu
0.199 veya altı	390 veya altı	Negatif
0.200 veya üstü	391 veya üstü	Pozitif

Tüm S/P, titre ve genel sürü profili değerleri üretici firmanın özel bilgisayar programı (BioChek Software programme) kullanılarak hesaplandı.

3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme

Aydın, Denizli, İzmir, Manisa, Muğla ve Uşak illerindeki broiler, broiler damızlık ve yumurtacıların seropozitiflik oranları istatistiksel olarak χ^2 testi ile karşılaştırıldı (Steel ve Torrie 1980). Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Varyansların homojenitesi için Levene Testi uygulandı. Bu hayvanların antikor titrelerinin kendi içinde yaşlara göre istatistiksel karşılaştırmaları için Kruskal Wallis testi (tek yönlü varyans analizi olan ANOVA'nın non-parametrik şekli) ve Post-Hoc analizi kullanıldı. Broiler, broiler damızlık ve yumurtacıların antikor titrelerinin aynı yaş gruplarında yetiştirme türüne göre istatistiksel karşılaştırılması için ise Mann whitney U testi (Independent Sample T Testinin non-parametrik şekli) kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS 22.0 programı kullanılarak yapıldı (Özdamar 2004, Hayran ve Hayran, 2011). Analizler sonucunda P değerinin 0,05'den küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Yetiştirme Türlerine Göre Seropozitiflik Dağılımları

Çalışmada, tüm broiler, broiler damızlık ve yumurtacı ve yumurtacı damızlık kümeslerinden elde edilen toplam 1821 örneğin 142'si (%7,80) seropozitif, 1679'u da seronegatif olarak saptandı. Örneklerin alındığı 106 kümeden 27 tanesinde (%25,47) antikor pozitiflik bulundu.

Yetiştirme türüne göre broiler, broiler damızlık, yumurtacı ve yumurtacı damızlıklarda seropozitiflik oranları sırasıyla %5,31, %5,38, %17,91 ve %0,00 olarak belirlendi. 490 adet broilerden 26 adeti, 948 adet broiler damızlıktan 51 adeti 363 adet yumurtacıdan 65 adeti pozitif saptanırken, 20 yumurtacı damızlıkta seropozitiflik saptanmadı (Tablo 3). Yetiştirme türlerine göre broiler, broiler damızlık ve yumurtacı sürülerinin seropozitiflikleri χ^2 istatistiksel yöntemiyle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptandı (P=0,000). Ancak broiler ve broiler damızlıklara ait seropozitiflik oranları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi.

Yumurtacı damızlık grubu alınan örnek sayısının az olması dolayısıyla tüm istatistiksel değerlendirmelerde göz önüne alınmamıştır.

Tablo 3. Yetiştirme türlerine göre seropozitiflik dağılımları

Yetiştirme türü	n	Seropozitif	%	χ^2
Broiler	490	26	5,31	P= 0,000
Broiler Damızlık	948	51	5,38	
Yumurtacı	363	65	17,91	
Yumurtacı Damızlık	20	0	0	
Toplam	1821	142	7,80	

n: Test edilen hayvan sayısı

Broiler, broiler damızlık ve Yumurtacı gruplardaki antikor pozitif örneklerin ortalama titre bakımından genel karşılaştırılmasında (Ortalama \pm Standart hata) Kruskal Wallis testi yapıldı. Broiler ve broiler damızlıklarda antikor titrelerinin yumurtacı tavuklara oranla daha düşük olduğu tespit edildi ($p=0,011$) (Tablo 4).

Tablo 4. Broiler, broiler damızlık ile yumurtacı gruplardaki antikor pozitif örneklerin ortalama antikor titreleri bakımından genel karşılaştırılması

Yetiştirme Türü	N	$\bar{X} \mp S_{\bar{x}}$
Broiler	26	620,46 \pm 65,09 ^b
Broiler Damızlık	51	1329,96 \pm 206,71 ^a
Yumurtacı	65	1376,42 \pm 175,25 ^a
P		0,011

N: Seropozitif hayvan sayısı

4.2. İllere Göre Seropozitiflik Dağılımları

Avian HEV enfeksiyonunun yaygınlığı, Aydın'da 68 tavukta seropozitiflik saptanmazken (%0,00), İzmir'de 696 tavuğun 61 tanesinde (%8,76), Uşak'ta 354 tavuğun 26 tanesinde (%7,34), Denizli'de 247 tavuğun 35 tanesinde (%14,17), Manisa'da 396 tavuğun 19 tanesinde (%4,80), Muğla'da 60 tavukta bir adet (%1,67) seropozitiflik saptandı (Tablo 5). İller arasında aHEV seropozitiflik dağılımları χ^2 testi ile istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P=0,000$).

Tablo 5. İllere göre tavuklardaki aHEV seropozitiflik dağılımları

İl	n	Seropozitif	%	χ^2
Aydın	68	0	0	P=0,000
İzmir	696	61	8,76	
Uşak	354	26	7,34	
Denizli	247	35	14,17	
Manisa	396	19	4,80	
Muğla	60	1	1,67	
Toplam	1821	142	7,80	

4.3. Yaşa Göre Broiler, Broiler Damızlık ve Yumurtacılarda Seropozitiflik Dağılımları

Aydın, Denizli, İzmir, Manisa, Muğla ve Uşak illerinden toplanan broiler, broiler damızlık ve yumurtacı örneklerinde yaş gruplarına göre seropozitiflik oranları ve titreleri incelendi.

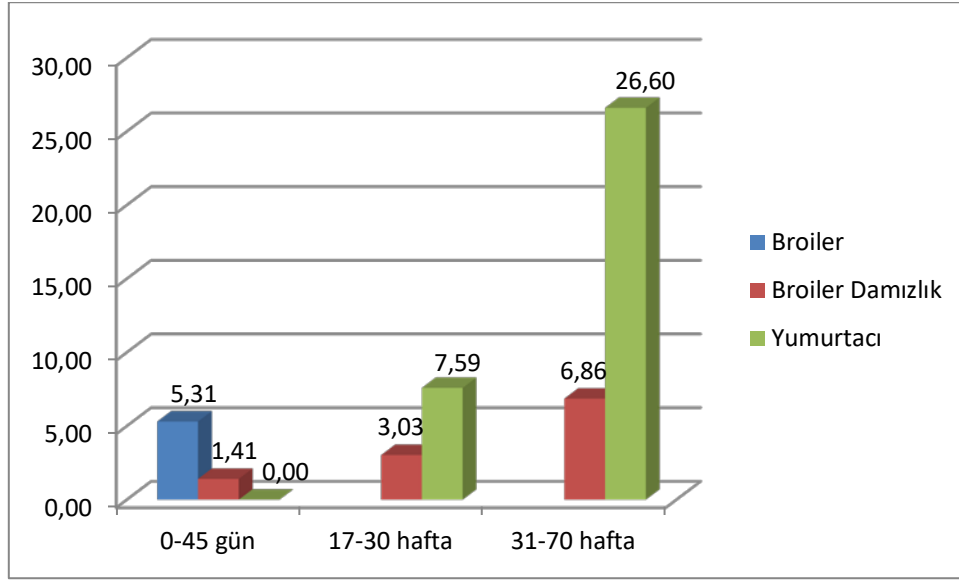
Yaşlara göre broiler, broiler damızlık, yumurtacı ve yumurtacı tavuklarda aHEV antikor yönünden pozitif örnek sayıları ve seropozitiflik oranları tablo 6'da verilmiştir. Broiler damızlıkların 0-45 günlük olan tavuk grubunda %1,41 (2/142), 17-30 haftalık olanlarında %3,03 (5/165), 31-70 haftalık olanlarında ise %6,86 (44/641) oranında seropozitiflik belirlendi. 0 – 45 günlüğe kadar yetiştirilen broiler tavuklarda %5,31 (26/490) seropozitiflik saptandı. Yumurtacılarda ise 0-45 günlük tavuk grubunda ise seropozitiflik görülmezken (0/15), 17-30 haftalık tavuklarda %7,59 (11/145), 31-70 haftalık tavuklarda %26,60 (54/203) oranında seropozitiflik belirlendi. 31-70 hafta yaş aralığında bulunan 20 adet yumurtacı damızlık antikor yönünden negatif bulundu (Tablo 6).

Tablo 6. Yaşlara göre broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklardaki aHEV seropozitiflik dağılımları

Yaş	0 – 45 gün			17 – 30 hafta			31 – 70 hafta		
	n	Seropozitif	%	n	Seropozitif	%	N	Seropozitif	%
Broiler	490	26	5,31	-	-	-	-	-	-
Broiler Damızlık	142	2	1,41	165	5	3,03	641	44	6,86
Yumurtacı	15	0	0,00	145	11	7,59	203	54	26,60
Yumurtacı Damızlık	-	-	-	-	-	-	20	0	0
Toplam	647	28	4,33	310	16	5,16	864	98	11,34

0-45 gün arası olan broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavukların seropozitiflik oranlarının χ^2 istatistik yöntemiyle karşılaştırılmasında sonucun anlamlı olduğu ve 0-45 günlük tavuklar içerisinde en yüksek seropozitiflik oranının broiler tavuklarda olduğu görüldü (P=0,000).

Broiler damızlık ve yumurtacı tavuklarda yaşlara göre seropozitiflik oranlarının χ^2 yöntemiyle karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve seropozitiflik oranlarının yaşa bağlı olarak arttığı tespit edildi (P=0,000). Broiler tavuklar 45 güne kadar beslenip kesime gönderildiği için yaşa göre bu istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır. Broiler damızlık ve yumurtacı tavuklarda yaşa bağlı olarak seropozitiflik oranlarının artışı Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Yaşa göre broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklardaki aHEV seropozitiflik yüzdelerinin karşılaştırılması

Seropozitif broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavukların yaşlarına göre titre ortalamaları karşılaştırıldı. Seropozitif broilerlerde 0-45 gün yaş aralığında titre ortalaması 620,46 olarak saptandı. Seropozitif broiler damızlıklarda 0-45 gün yaş aralığında titre ortalaması 688,50, 17-30 hafta yaş aralığında 783,20 ve 31-70 hafta yaş aralığında 1421,25 saptandı. Seropozitif yumurtacılarda ise 17-30 hafta yaş aralığında 1356,18 ve 31-70 hafta yaş aralığındakilerde 1380,54 titre ortalaması saptandı (Tablo 7). Yaş arttıkça, titre ortalamasının da arttığı gözlemlendi.

Tablo 7. Yaşa göre seropozitif broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklardaki aHEV antikor titrelerinin karşılaştırılması.

Yetiştirme türü	0 – 45 gün titre ortalaması	17 – 30 hafta titre ortalaması	31 – 70 hafta titre ortalaması
Broiler	620,46	-	-
Broiler Damızlık	688,50	783,20	1421,25
Yumurtacı	-	1356,18	1380,54

Broiler damızlıklarda yaşa göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılmasında (Ortalama \pm Standart hata) Kruskal Wallis Testi uygulandı. Broiler damızlıklarda istatistiksel fark görülmemesine rağmen yaşa bağlı olarak antikor titresinde artış olduğu gözlemlendi (Tablo 8).

Tablo 8. Broiler damızlıklarda yaş gruplarına göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılması

Yaş	N	$\bar{X} \mp S_{\bar{x}}$
0-45 Gün	2	688,50 \pm 124,50
17-30 Hafta	5	783,20 \pm 160,82
31-70 Hafta	44	1421,25 \pm 236,40
P		0,886

Yumurtacılar da yaş gruplarına göre pozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılmasında (Ortalama \pm Standart hata) Mann Whitney U Testi uygulandı ve istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi (Tablo 9).

Tablo 9. Yumurtacı tavuklarda yaş gruplarına göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılması

Yaş	N	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
0-45 Gün	0	-
17-30 Hafta	11	1356,18 \pm 705,63
31-70 Hafta	54	1380,54 \pm 159,69
P		0,073

Yetiştirme türüne göre 0-45. günler arasında bulunan seropozitif broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavukların antikor titreleri bakımından karşılaştırılmasında (Ortalama \pm Standart hata) Mann Whitney U Testi uygulandı ve 0-45 günlük tavuklarda antikor titreleri yönünden, yetiştirme türüne göre (broiler ve broiler damızlık grupları arasında) istatistiksel bir farklılık saptanmadı (Tablo 10).

Tablo 10. 0 - 45. günler arası yetiştirme türüne göre seropozitif örneklerin antikor titrelerinin karşılaştırılması

Yetiştirme Türü	N	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
Broiler	26	620,46 \pm 65,09
Broiler Damızlık	2	688,50 \pm 124,50
Yumurtacı	0	-
P		0,211

İstatistiksel olarak 17 – 30 haftalık seropozitif broiler damızlık ve yumurtacı tavukların antikor titreleri karşılaştırıldığında, yumurtacı tavuklarda titre değer ortalaması broiler damızlıkların titre ortalamasına göre anlamlı olarak daha büyük bulundu (P=0,008). Bununla birlikte 31 – 70 haftalık broiler damızlık ve yumurtacı tavukların antikor titreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı (P=1,88).

5. TARTIŞMA

Hayvanların sağlıklı olarak yetiştirilebilmesi ve yüksek verim elde edilebilmesi için enfeksiyöz hastalıklardan koruma önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, bölgede bulunan yaygın hastalıkların bilinmesi, viral hastalıklar yönünden sürekli kontrollerinin yapılması gerekmektedir. Viral hastalıkların teşhis edilmesi, epizootiyolojik kontrol ve analizlerinin düzenli olarak yapılması ile bölgedeki varlıklarının ve yaygınlıklarının belirlenmesi mücadele, kontrol ve eradikasyon açısından çok önemli olup, bu hastalıklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılmasına ve hatta ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilmektedir.

Avian Hepatitis E virusu (aHEV) tavuklarda büyük karaciğer ve dalak hastalığına (Hepatit-splenomegali sendromu) neden olmaktadır. En başta yumurta üretiminde önemli düşüş, depresyon, ölüm oranında artış (Shivaprasad ve ark, 2008; Morrow ve ark, 2008), patolojik olarak ise büyümüş karaciğer ve bazılarında splenomegali, karında serosanguinöz sıvı ve pıhtılaşmış kan toplanması ile karakterize bir hastalık meydana getirmektedir. Enfeksiyon, tavuklarda yumurta veriminde azalmaya ve ölümlere sebep olması sonucu kanatlı endüstrisinde ekonomik problemlere yol açmaktadır (Morrow ve ark, 2008).

Amerika'da 5 eyaletteki 76 farklı sürüden, farklı yaş ve ırklarda toplam 1276 tavuk üzerinde yapılan araştırmaya göre; aHEV seropozitiflik oranı %71 olarak saptanmıştır (Huang ve ark, 2002). Yaşa bağlı olarak artış gözlenmiştir; 18 haftalıktan küçük tavukların %17'si anti-aHEV antikorü yönünden pozitif bulunurken yetişkinlerde bu oran %36 olarak tespit edilmiştir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004).

Hsu ve Tsai (2014) tarafından yapılan çalışmalarda damızlık tavuklarda seropozitiflik oranını % 34,31 (294/857), yumurtacı tavuklarda ise % 52,03 (244/469) olarak saptamışlardır. Bu çalışmalardan yola çıkarak aHEV enfeksiyonlarının tavuklar arasında subklinik yayılma gösteren enzootik bir hastalık olduğu söylenebilmektedir.

Son yıllarda, Rusya, Kore ve Çin'deki tavuk sürülerinde de aHEV enfeksiyonları bildirilmiştir (Zhao ve ark, 2010; Kwon ve ark, 2012; Sprygin ve ark, 2012). Avrupa'da Macaristan ve İtalya'da da hastalık vakaları görülmüştür (Massi ve ark, 2005, Morrow ve ark, 2008).

Liu ve ark. (2018)'lerinin Çin'de avianHEV enfeksiyonunun prevalansını araştırmak için ortak bir alanda yaşayan tavuk, ördek, kaz ve tavşandan oluşan karışık bir hayvan grubundan serum, dışkı ve safra örnekleri toplayarak yaptıkları çalışmada; tavuklarda %35,09 (20/57), ördeklerde %30 (9/30), kazlarda %25 (6/24) ve tavşanlarda %50 (8/16) oranında anti-avianHEV antikorları yönünden seropozitiflik saptamışlardır.

Matczuk ve ark. (2019) tarafından, Polonya'da yumurtacı ve damızlık broiler sürülerinden topladıkları 1034 adet serum örneği ile anti-aHEV antikorları yönünden araştırılmıştır. Rastgele seçilen örneklerle yapılan seroloji çalışmasında sürülerin %56,1'inde seropozitiflik saptandığı bildirilmiştir. Seroprevalans yumurtacı tavuk sürülerinde, damızlık broilerlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Ülkemizdeki kanatlı işletmelerinde aHEV enfeksiyonuna benzer bulguların varlığı konusunda bildirimlerin olmasına rağmen enfeksiyonun varlığına ve yaygınlığına dair bilimsel bir rapor bulunmamaktadır.

Bu alışmada, Ege Bölgesi'ndeki broiler, broiler damızlık, yumurtacı ve yumurtacı damızlık tavuklarda aHEV enfeksiyonunun serolojik olarak varlığının ve yaygınlık oranının saptanması amaçlandı. Ayrıca yetiştirme türüne ve yaş gruplarına göre seropozitiflik dağılımının ve antikor titrelerinin incelenerek aHEV enfeksiyonuna karşı duyarlılığın belirlenmesi planlandı. Bu amaçla Aydın, Denizli, İzmir, Manisa, Muğla, Uşak illerinde bulunan çeşitli kanatlı işletmelerinden alınan toplam 1821 tavuk örneğinden, 142'sinde aHEV'e karşı spesifik antikor varlığı saptandı. Bu bulguya göre Ege Bölgesi'nde aHEV enfeksiyonunun varlığı kanıtlanmış olup, genel seropozitiflik oranı %7,80 olarak belirlendi.

Bu çalışmanın sonuçları çeşitli ülkelerde yapılan araştırmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında Türkiye'de aHEV enfeksiyonunun düşük oranlarda seyrettiği söylenebilir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004; Hsu ve Tsai, 2014; Liu ve ark. 2018). Ancak enfeksiyona karşı önlem alınmadığı takdirde aHEV'in yaygınlaşabileceği ve bu oranın daha da yükselebileceği göz önünde tutulmalıdır. Bu alışma için örneklenen hayvanlarda ve buldukları kümeslerde sağlık durumu, klinik ve verim düzeyleri konusunda bilgiler elde edilememiştir. Bu nedenle söz konusu enfeksiyonun hayvanların sağlık durumuna ve verim düzeylerine olan etkileri, dolayısıyla ekonomiye verdikleri zararlar konusunda araştırma yapılamamıştır. Fakat sunulan bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, Türkiye'nin önemli gıda kaynaklarından olan

kanatlı endüstrisinde aHEV enfeksiyonunun gerekli önlemler alınmadığı sürece ciddi ekonomik zararlara yol açabileceği kanısına varılmıştır.

Avian HEV enfeksiyonunun özellikle yetişkin yumurtacı tavuklarda ve broiler damızlıklarda yaygın olarak görüldüğü ve önemli olduğu bildirilmiştir (Meng ve Shivaprasad, 2013).

Yetiştirme türüne göre yapılan incelemede, aHEV enfeksiyon oranı broiler tavuklarda %5,31 (26/490), broiler damızlık tavuklarda %5,38 (51/948), yumurtacı tavuklarda %17,91 (51/363) ve yumurtacı damızlıklarda ise %0,00 (0/20) olarak bulundu. En yüksek seropozitiflik oranı ve antikor titresi yumurtacı tavuklarda saptanırken, broiler ve broiler damızlık sürülerde enfeksiyonun yakın oranlarda seyrettiği görüldü. Avian HEV enfeksiyonu her ne kadar literatürlerde broiler damızlık ve yumurtacı tavukların hastalığı olarak geçse de ((Meng ve Shivaprasad, 2013); bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda Ege Bölgesi'ndeki broiler tavuklarda da yüksek oranda seyredebileceği ve virusun yayılmasında rol oynayabileceği tahmin edilmektedir.

İllere göre Avian HEV enfeksiyonunun yaygınlığı Aydın'da seropozitiflik saptanmazken (0/68), İzmir'de %8,76 (61/696), Uşak'ta %7,34 (26/354), Denizli'de %14,17 (35/247), Manisa'da %4,79 (19/396), Muğla'da %1,67 (1/60) olarak belirlendi. İller arasında aHEV seropozitiflik oranları arasında istatistiksel farklılıkların saptanması kanatlı çiftliklerinin bölgedeki yoğunluğu ve yetiştirme türleri ile ilgili olabilir. En yüksek oranın Denizli'de saptanmasının nedeni bu ilden gelen örneklerin çoğunluğunun yumurtacı tavuklara ait olması olarak görülebilir.

Deneysel koşullarda her yaştaki tavuğun enfeksiyona duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Billam ve ark, 2005;2006; Huang ve ark, 2005). Yaşa bağlı olarak; 18 haftalıktan küçük tavukların %17'si anti-HEV antikorü yönünden pozitifken, yetişkinlerde oran %36 olarak bildirilmiştir (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004). Tavuklar, etkene her yaşta duyarlı olmalarına rağmen (Billam ve ark, 2005; 2006; Huang ve ark, 2005), klinik belirtiler 24 haftalıktan daha büyük tavuklarda gözlenmektedir (Haqshenas ve ark, 2001). Genellikle 30 –72 haftalık yumurtacı tavuklarda yüksek mortalite ile seyretmektedir ve en yüksek insidens 40-50 haftalık yaş aralığındadır. Haftalık ölüm oranı %1'e kadar artış gösterebilir (Riddell, 1997; Shivaprasad ve Woolcock, 1995).

Daha önce yapılan araştırmaların bulgularına benzer şekilde (Huang ve ark, 2002; Sun ve ark, 2004) bu çalışmada da, hayvanların yaşlarına göre yapılan incelemede, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklarda farklı yaş gruplarına göre seropozitiflik bakıldığında, yaş büyüdükçe seropozitiflik oranında artış görüldü. Broiler damızlıklarda; 0 – 45 günlük hayvanlarda %1,41 saptanan seropozitiflik, 17 -30 haftalık hayvanlarda %3,03 olarak saptanırken, 31 – 70 haftalık hayvanlarda ise seropozitiflik oranı %6,86’ya çıktığı gözlendi. Yumurtacı tavuklarda ise 0 – 45 gün arasında seropozitiflik saptanmadı. 17 – 30 haftalık yumurtacılar da %7,59 seropozitiflik görülürken, 31 – 70 haftalık tavuklarda bu oranın %26,60’a çıktığı belirlendi.

Haqshenas ve ark. (2001), klinik belirtilerin 24 haftalıktan daha büyük tavuklarda gözlendiğini bildirmiştir. Çalışmada, yaşları 0 – 45 gün arasında olan broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklar karşılaştırıldığında en yüksek seropozitifliğin %5,31 (26/490) oranı ile broiler tavuklarda olduğu saptandı (P=0,000). Yumurtacılar da 0-45 günler arasında seropozitiflik görülmezken (0/15) broiler damızlıklarda seropozitiflik oranı %1,41 (2/142) olduğu belirlendi. Seropozitif bulunan 26 adet broiler tavuğın ortalama antikor titresini 620,46 ve 2 adet broiler damızlığın ortalama antikor titresini ise 688,50 olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre broilerlerde yüksek seropozitiflik oranlarının görülmesi ve enfeksiyonun broiler damızlıklarla benzer titrede seyretmesi broilerin de enfeksiyona duyarlı olduğunu ve tavuklarda erken yaşlarda enfeksiyonun görülebileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, sonuçlar broiler tavukların aHEV enfeksiyonunun epizootiyolojisi açısından önemli rol oynayabileceğinin ve klinik bulgular gözlenmeden hayvanların kesime gönderilmesi söz konusu olduğu için virusun gizli bir şekilde yayılabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Seropozitif sürülerde mutlaka HSS veya BLSD görülmese de, dünya çapındaki tavuk sürülerinin önemli bir kısmı avian HEV için seropozitifdir (Meng ve ark, 2013). Enfeksiyonun bu özelliği, çoğunlukla semptomsuz ve gizli seyrettiğini, oluşturabileceği sağlık sorunlarının ve verim kayıplarının nedeninin gözden kaçabileceğini göstermektedir. Ancak yeterli bilinçlenmenin sağlanması ile birlikte; aHEV enfeksiyonuna bağlı hayvan sağlığı sorunlarının ve verim kayıplarının araştırılması sonucunda çeşitli önlemler alınabilir. Bunun için mevcut araştırmalar yetersiz kaldığından, virolojik çalışmaların devam etmesi gerekmektedir. Böylece hem insan ve evre sağlığı, hem de sürü sağlığının devamlılığı açısından büyük ilerleme kaydedilebilecektir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, Ege Bölgesi’nde Avian Hepatit E enfeksiyonu broiler, broiler damızlık ve yumurtacı tavuklarda gözlendi. Avian HEV enfeksiyonu dünyada ve

ülkemizde yeni tanınmaya başlandığından; ortaya çıkışı, epidemiyolojisi ve önemini belirlenmesi için daha fazla serolojik, virolojik, epidemiyolojik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Avian HEV'in ve oluşturduğu enfeksiyonunun hala bilinmeyen pek çok yönü vardır. aHEV'i üretebilecek bir hücre kültürü sisteminin bulunmaması nedeniyle, virusun biyolojisi ve patogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Bu nedenle, henüz aHEV'e karşı etkili bir aşı da geliştirilememiştir.

Kanatlı hepatit viruslarının halk sağlığı üzerine etkileri, çapraz tür enfeksiyonları, zoonotik özellikleri enfeksiyonunun Dünya'daki yayılımı ve coğrafik prevalansları ve yayılımı üzerine çalışmalar henüz yeterli değildir. Şimdiye kadar sadece birkaç ülkeden 5 genotip tanımladığı için, Avian HEV'in genetik çeşitliliği hakkında da detaylı bilgi de bulunmamaktadır. Bölgedeki hastalıkların etiyolojisinin, epidemiyolojisinin ve yaygınlığının bilinmesi, hastalıkların profilaksisinin ve mücadele stratejilerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Yapılacak olan epidemiyolojik kontrollerin, hastalıkların varlığını ve yaygınlığını ortaya koymadaki rolleri büyüktür. Viral hastalıkların tanısının yapılması ve epizootiyolojik durumlarının araştırılması, mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için önemli bir kriterdir. Avian Hepatitis E virusu (aHEV) tavuklarda büyümüş karaciğer ve splenomegali ile karakterize bir sendroma neden olmaktadır. Enfeksiyon tavuklarda yumurta veriminde azalmaya ve ölümlere sebep olması dolayısıyla kanatlı endüstrisinde ekonomik problemlere yol açmaktadır (Morrow ve ark. 2008). Daha önce yapılan epidemiyolojik araştırmalarda, aHEV enfeksiyonunun birçok ülkede prevalansları saptanmış olup, dünyada enfeksiyonun yüksek oranda seyrettiği ve enzootik olduğu kabul edilmektedir. Ancak ülkemizde şimdiye kadar enfeksiyonun benzer bulgularına rastlanmasına karşın enfeksiyonun varlığına dair hiçbir bilimsel veya resmi bir rapor bulunmamaktadır.

Dünya'da ve ülkemizde aHEV enfeksiyonunun ortaya çıkışı, dağılımı ve bölgedeki önemini belirlemek için daha fazla epizootiyolojik araştırmaya ihtiyaç vardır. Böylece daha etkin koruma-kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi sağlanabilir. Virusun özellikleri, genetik çeşitliliği, coğrafik prevalansı, kliniği, patolojisi, ve patogenezi üzerine çalışmalar henüz yeterli değildir.

Bu tez çalışması, Türkiye'de aHEV enfeksiyonu hakkındaki verileri ortaya koyan ilk bilimsel rapordur. Bu çalışma ile özellikle enfeksiyona karşı gerekli önlemlerin alınması enfeksiyon hakkında Türkiye'de farkındalık yaratılması amaçlanmıştır. Bu araştırmanın sonuçları, daha sonra yapılacak olan, hastalıkla mücadeleyi ve kontrol önlemlerini içine alan,

daha geniş kapsamlı çalışmalara ön hazırlık niteliğindedir. Enfeksiyonunun varlığının saptanması aHEV'in mücadelesini ve kontrol stratejilerini de içine alan ve belirleyen daha geniş çaplı araştırmaların (virusun özellikleri, genetik çeşitliliği, epizootiyolojisi, kliniği, patogenezi ve patolojisi v.b. yönünden) yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Böylece kanatlı işletmelerinde hastalığa bağlı olası ekonomik kayıpların azaltılması mümkün olacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Ege Bölgesi'nde aHEV enfeksiyonunun varlığı kanıtlanmış olup, genel seropozitiflik oranı %7,80 olarak belirlenmiştir. Yetiştirme türüne göre yapılan incelemede, aHEV enfeksiyon oranı broiler tavuklarda %5,31 (26/490), broiler damızlık tavuklarda %5,38 (51/948), yumurtacı tavuklarda %17,91 (51/363) ve yumurtacı damızlıklarda ise %0,00 olarak bulunmuştur. Bu çalışma, Ege Bölgesi'ndeki kanatlı işletmelerinde aHEV enfeksiyonunun serolojik olarak varlığı ve genelde %7,80 oranında yaygın olduğunu göstermiştir. Çalışmanın sonuçları doğrultusunda Ege Bölgesi'ndeki tüm yetiştiricilik türlerinde ve her yaştaki tavuklarda aHEV enfeksiyonunun yüksek oranda seyredebileceği düşünülmektedir.

Bölgedeki hastalıkların etiyolojisinin, epidemiyolojisinin ve yaygınlığının bilinmesi, hastalıkların profilaksisinin ve mücadele stratejilerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Yapılacak olan epidemiyolojik kontrollerin, hastalıkların varlığını ve yaygınlığını ortaya koymadaki rolleri büyüktür. Viral hastalıkların tanısının yapılması ve epizootiyolojik durumlarının araştırılması, mücadele yöntemlerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için önemli bir kriterdir.

Avian Hepatitis E virusu (aHEV) tavuklarda büyümüş karaciğer ve splenomegali ile karakterize bir sendroma neden olmaktadır. Enfeksiyon tavuklarda yumurta veriminde azalmaya ve ölümlere sebep olması dolayısıyla kanatlı endüstrisinde ekonomik problemlere yol açmaktadır. Daha önce yapılan epidemiyolojik araştırmalarda, aHEV enfeksiyonunun birçok ülkede prevalansları saptanmış olup, dünyada enfeksiyonun yüksek oranda seyrettiği ve enzootik olduğu kabul edilmektedir. Ancak ülkemizde benzer bulgularına rastlanmasına karşın enfeksiyonun varlığına dair hiçbir bilimsel veya resmi bir rapor bulunmamaktadır.

Bu tez çalışması, Türkiye'de aHEV enfeksiyonu hakkındaki verileri ortaya koyan ilk bilimsel rapordur. Avian Hepatitis E enfeksiyonundan kaynaklanan ekonomik kayıpların azaltılması ve enfeksiyon mücadelesi ile kontrol stratejilerini de içine alan daha geniş çaplı araştırmalara (moleküler viroloji, epizootiyoloji, patogenezi çalışmaları vb. için) bir ön hazırlık niteliği taşımaktadır. Bu çalışmanın aHEV enfeksiyonu hakkında Türkiye'de farkındalık yaratılarak hayvan sağlığına ve kanatlı işletmelerine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. .Bu bağlamda, ileride kullanılacak bir aşı veya hızlı teşhis kiti geliştirme çalışmalarına yol

göstererek, aHEVenfeksiyonlarından kaynaklanan ekonomik kayıpların önüne geçilmesi için adımların atılması mümkün olabilecektir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile ülkemizde aHEV enfeksiyonunun varlığı ve Ege Bölgesi'ndeki yaygınlığı ilk kez ortaya konulmuş olup, enfeksiyona karşı mücadele önlemlerinin alınması ve bu konudaki bilimsel araştırmaların genişletilmesi gerekliliği vurgulanmıştır.

KAYNAKLAR

Acha PN, Szyfres B. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. 3rd ed. Pan American Health Organization, Washington, 2003.

Aggarwal R. Clinical presentation of hepatitis E. *Virus Research* 2011,161, 15-22

Aggarwal R. Hepatitis E: Epidemiology and Natural History. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 2013, 3(2), 125-133.

Agunos AC, Yoo D, Youssef S, Ran D, Binnington B, Hunter DB. Avian hepatitis E virus in an outbreak of hepatitis splenomegaly syndrome and fatty liver hemorrhage syndrome in two flaxseedfed layer flocks in Ontario, *Avian Pathology* 2006, 35(5), 404–412

Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, Poleschuk VF. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 1983, 20, 23-31.

Bányai K, Tóth ÁG, Ivanics E, Glávits R, Szentpáli-Gavallér K, Dán Á. Putative novel genotype of avian hepatitis E virus, Hungary, 2012. *Emerging Infectious Diseases* 18, 1365–1368.

Berke T, Matson DO. Reclassification of the Caliciviridae into distinct genera and exclusion of hepatitis E virus from the family on the basis of comparative phylogenetic analysis. *Archives of Virology* 2000, 150, 1421–1436.

Bilic I, Jaskulska B, Basic A, Morrow CJ, Hess M. Sequence analysis and comparison of avian hepatitis E viruses from Australia and Europe indicate the existence of different genotypes. *Journal of General Virology* 2009, 90, 863–873.

Billam P, Huang FF, Sun ZF, Pierson FW, Duncan RB, Elvinger F, Guenette DK, Toth TE, Meng XJ. Systematic pathogenesis and replication of avian hepatitis E virus in specific-pathogen-free adult chickens. *Journal of Virology* 2005, 79, 3429–37.

Billam P, Pierson FW, Duncan R, Meng XJ. Evidence of extrahepatic sites of replication for hepatitis E virus in a chicken model under natural route of infection. Proceeding of 25th Annual Meeting of American Society for Virology s221. July 15–19, 2006, Madison, Wisconsin.

Billam P, Pierson F, Li W, LeRoith T, Duncan R, Meng XJ. Development and validation of a negative-strand-specific reverse transcription-PCR assay for detection of a chicken strain of hepatitis E virus: identification of nonliver replication sites. *Journal of Clinical Microbiology* 2008, 46, 2630–2634.

Bradley D, Andjaparidze A, Cook EH, McCaustland KA, Humphrey CD, Spelbring JE, Myint H. Aetiologic agent of enterically–transmitted non-A, non-B hepatitis. *Journal of General Virology* 1988, 69, 731-738.

Bryan JP, Tsarev SA, Iqbal M, Ticehurst J, Emerson S, Ahmed A. Epidemic hepatitis E in Pakistan: Patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. *Journal of Infectious Diseases* 1994, 170(3), 517–21.

Cao D, Meng XJ. Molecular biology and replication of hepatitis E virus. *Emerging Microbes and Infections* 2012, 1(8), e17.

Chandler JD, Riddell MA, Li F, Love RJ, Anderson DA. Serological evidence for swine hepatitis E virus infection in Australian pig herds. *Veterinary Microbiology* 1999, 68(1–2), 95–105.

Chandra V, Taneja S, Kalia M, Jameel S. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *Journal of Biosciences* 2008, 33, 451-64.

Cook N, Van del Poel WHM. Survival and Elimination of Hepatitis E Virus: A Review. Food and Environment Research Agency, 2015.

Crerar SK, Cross GM. The experimental production of big liver and spleen disease in broiler breeder hens. *Australian Veterinary Journal* 1994a, 71, 414–417.

Crerar SK, Cross GM. Epidemiological and clinical investigations into big liver and spleen disease of broiler breeder hens. *Australian Veterinary Journal* 1994b, (71), 410–413..

Dawson GJ, Chau KH, Cabal CM, Yarbough PO, Reyes GR, Mushahwar IK.

Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay for hepatitis E virus IgG and IgM antibodies utilizing recombinant antigens and synthetic peptides. *Journal of Virological Methods* 1992, 38 (1), 175–186.

Emerson SU, Purcell RH. Recombinant vaccines for hepatitis E. *Trends in Molecular Medicine* 2001, 7(10), 462–6.

Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH. Thermal stability of hepatitis E virus. *Journal of Infectious Diseases* 2005, 192, 930–933.

Emerson SU, Clemente-Casares P, Moiduddin N, Arankalle VA, Torian U, Purcell RH. Putative neutralization epitopes and broad cross-genotype neutralization of hepatitis E virus confirmed by a quantitative cell-culture assay. *Journal of General Virology* 2006, 87(3), 697–704.

Ellis TM, Payne CJ, Plant SL, Gregory AR. An antigen detection immunoassay for big liver and spleen disease agent. *Veterinary Microbiology* 1995, 46, 315–326.

Gu Y, Tang X, Zhang X, Zhang X, Song C, Zheng M, Wang K, Zhang J, Ng MH, Hew CL, Li S, Xia N, Sivaraman J. Structural basis for the neutralization of hepatitis E virus by a cross-genotype antibody. *Cell Research* 2015, 25(5), 604-620.

Guo H, Zhou EM, Sun ZF, Meng XJ, Halbur PG. Identification of B-cell epitopes in the capsid protein of avian hepatitis E virus (avian HEV) that are common to human and swine HEVs or unique to avian HEV. *Journal of General Virology* 2006, 87, 217–223.

Guo H, Zhou EM, Sun ZF, Meng XJ. Protection of chickens against avian hepatitis E virus (avian HEV) infection by immunization with recombinant avian HEV capsid protein. *Vaccine* 2007, 25, 2892–2899.

Guo H, Zhou EM, Sun ZF, Meng XJ. Immunodominant epitopes mapped by synthetic peptides on the capsid protein of avian hepatitis E virus are non-protective. *Viral Immunology* 2008, 21, 61–67.

Handlinger JH, Williams W. An egg drop associated with splenomegaly in broiler breeders. *Avian Diseases* 1988, 32, 773–778.

Haqshenas G, Shivaprasad HL, Woolcock PR, Read DH, Meng XJ. Genetic identification and characterization of a novel virus related to human hepatitis E virus from chickens with hepatitissplenomegaly syndrome in the United States. *Journal of General Virology* 2001, 82, 2449-2462.

Haqshenas G, Huang FF, Fenaux M, Guenette DK, Pierson FW, Larsen CT, Shivaprasad HL, Toth TE, Meng XJ. The putative capsid protein of the newly identified avian hepatitis E virus shares antigenic epitopes with that of swine and human hepatitis E viruses and chicken big liver and spleen disease virus. *Journal of General Virology* 2002, 83, 2201–2209.

Hayran M, Hayran M. Sağlık Araştırmaları İçin Temel İstatistik, Omega Araştırma, Ankara, 2011, 155-255.

Hsu IWY, Tsai H.-J. Avian hepatitis E virus in chickens, Taiwan, *Emerging Infectious Diseases* 2014, 20, 149–151.

Huang FF, Haqshenas G, Shivaprasad HL, Guenette DK, Woolcock PR, Larsen CT, Pierson FW, Elvinger F, Toth TE, Meng XJ. Heterogeneity and seroprevalence of the newly identified avian hepatitis E virus from chickens in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40, 4197-4202.

Huang FF, Pierson FW, Toth TE, Meng XJ. Construction and characterization of infectious cDNA clones of a chicken strain of hepatitis E virus (HEV), avian HEV. *Journal of General Virology* 2005, 86, 2585–2593.

Kalia M, Chandra V, Rahman SA, Sehgal D, Jameel S. Heparan sulfate proteoglycans are required for cellular binding of the hepatitis E virus ORF2 capsid protein and for viral infection. *Journal of Virology* 2009, 83(24), 12714-12724.

Kamar N, Bendall R, Legrand-Abrevanel F, Xia NS, Ijaz S, Izopet J, Dalton HR. Hepatitis E. *Lancet*. 2012, 1-12

Kamar N, Dalton HR, Abrevanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2014, 27(1), 116-38.

Kasorndorkbua C, Halbur PG, Thomas PJ, Guenette DK, Toth TE, Meng XJ. Use of a swine bioassay and a RT-PCR assay to assess the risk of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *Journal of Virological Methods* 2002, 101, 71–78.

Khuroo MS. Discovery of hepatitis E: the epidemic non-A, non-B hepatitis 30 years down the memory lane. *Virus Research* 2011, 161(1), 3-14.

Kapur N, Thakral D, Durgapal H, Panda SK. Hepatitis E virus enters liver cells through receptor-dependent clathrin-mediated endocytosis. *Journal of Viral Hepatitis* 2012, 19(6), 436-448.

Krain LJ, Nelson KE, Labrique AB. Host immune status and response to hepatitis E virus infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2014, 27(1), 139-165.

Kwon HM, Sung HW, Meng XJ. Serological prevalence, genetic identification, and characterization of the first strains of avian hepatitis E virus from chickens in Korea. *Virus Genes* 2012, 45, 237–245.

Lapina TI, Klimenko AI, Tokarev OI, Kostina EE, Lyashchenko LA, Krashennnikova EN. Avian Hepatitis E Virus, 2013. *Russian Agricultural Sciences* 2014, 40, (2), 157–159.

Li TC, Suzaki Y, Ami Y, Dhole TN, Miyamura T, Takeda N. Protection of cynomolgus monkeys against HEV infection by oral administration of recombinant hepatitis E virus-like particles. *Vaccine* 2004, 22(3–4), 370–377.

Liu B, Fan M, Zhang B, Chen Y, Sun Y, Du T, Nan Y, Zhou EM, Zhao Q. Avian hepatitis E virus infection of duck, goose, and rabbit in northwest China. *Emerging Microbes & Infections* 2018, 7, 76.

Marek A, Bilic I, Prokofieva I, Hess M. Phylogenetic analysis of avian hepatitis E virus samples from European and Australian chicken flocks supports the existence of a different genus within the Hepeviridae comprising at least three different genotypes. *Veterinary Microbiology* 2010, 145, 54–61.

Massi P, Tosi G, Gelmetti D, Lavazza A, Lombardi G, Torcoli G. Big liver and spleen disease in broiler breeders in Italy. *Journal of Animal Science* 2005, 4, 303–305

Matczuk AK, Ćwiek K, Wieliczko A. Avian hepatitis E virus is widespread among chickens in Poland and belongs to genotype 2. *Archives of Virology* 2019, 164(2), 595-599.

Meng XJ. From barnyard to food table: the omnipresence of hepatitis E virus and risk for zoonotic infection and food safety. *Virus Research* 2011, 161, 23–30.

Meng XJ, Dai X, Chang JC, Lopareva E, Pillot J, Fields HA, Khudyakov YE. Identification and characterization of the neutralization epitope(s) of the hepatitis E virus. *Virology* 2001, 288(2), 203–211.

Meng XJ, Pillot J, Dai X, Fields HA, Khudyakov YE. Neutralization of different geographic strains of the hepatitis E virus with anti-hepatitis E virus-positive serum samples obtained from different sources. *Virology* 1998, 249(2), 316–24.

Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 1997, 94, 9860–9865.

Meng XJ, Shivaprasad H, Payne CJ. Hepatitis E Virus infections. In: Diseases of poultry, 13th ed. Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, and D. E. Swayne, eds. Blackwell Publishing Press, Ames, IA., 2008 443–452.

Meng XJ, Shivaprasad HL. Avian Hepatitis E Virus Infections. In D.E. Swayne (Ed.). Diseases of Poultry, 13th edition, 2013, 494–512.

Miyashita K, Kang JH, Saga A, Takahashi K, Shimamura T, Yasumoto A, Fukushima H, Sogabe S, Konishi K, Uchida T, Fujinaga A, Matsui T, Sakurai Y, Tsuji K, Maguchi H, Taniguchi M, Abe N, Akbar SMF, Arai M, Mishiro S. Three cases of acute or fulminant hepatitis E caused by ingestion of pork meat and entrails in Hokkaido, Japan: Zoonotic food-borne transmission of hepatitis E virus and public health concerns. *Hepatology Research* 2012, 42(9), 870-878.

Morrow CJ, Samu G, Mátrai E, Klausz A, Wood AM, Richter S, Jaskulska B, Hess M. Avian hepatitis E virus infection and possible associated clinical disease in broiler breeder flocks in Hungary, *Avian Pathology* 2008, 37(5), 527-535.

Okamoto H. Culture systems for hepatitis E virus. *Journal of Gastroenterology* 2013, 48(2), 147-58.

Oon GC. Viral hepatitis--the silent killer. *Annals Academy of Medicine, Singapore*, 2012, 41(7), 279-280.

Panda SK, Ansari IH, Durgapal H, Agrawal S, Jameel S. The in vitro-synthesized RNA from a cDNA clone of hepatitis E virus is infectious. *Journal of Virology* 2000, 74, 2430–2437.

Panda SK, Varma SP. Hepatitis E: molecular virology and pathogenesis. *Journal of Clinical Experimental Hepatology* 2013, 3(2), 114-124.

Payne CJ. Studies of big liver and spleen disease virus of broiler breeder hens. Ph.D. Dissertation. Murdoch University, Australia, 2001.

Payne CJ. Big liver and spleen disease. In: *Diseases of Poultry* 11th edition, Ames: Iowa State University Press, 2003, 1183–1186.

Payne CJ, Ellis TM, Plant SL, Gregory AR, Wilcox GE. Sequence data suggests big liver and spleen disease virus (BLSV) is genetically related to hepatitis E virus. *Veterinary Microbiology* 1999, 68, 119–125.

Peralta B, Biarnés M, Ordóñez G, Porta R, Martín M, Mateu E, Pina S, Meng XJ. Evidence of widespread infection of avian hepatitis E virus (avian HEV) in chickens from Spain. *Veterinary Microbiology* 2009, 137, 31–36.

Pérez-Gracia, MT, García M, Suay B, Mateos-Lindemann ML. Current Knowledge on Hepatitis E. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 2015, 3(2), 117-126.

Purcell RH, Nguyen H, Shapiro M, Engle RE, Govindarajan S, Blackwelder WC, Wong DC, Prieels JP, Emerson SU. Pre-clinical immunogenicity and efficacy trial of a recombinant hepatitis E vaccine. *Vaccine* 2003, 21(19–20), 2607–2615.

Purdy MA, Harrison TJ, Jameel S, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WHM, Smith DB and ICTV Report Consortium. 2017, ICTV Virus Taxonomy Profile: Hepeviridae, *Journal of General Virology*, (In Press).

Purdy MA, Khudyakov YE. The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. *Virus Research* 2011, 161(1), 31-39.

Reed DH, Daft BM, Barton JT, Woolcock PR, Cutler G, Galey F. Necrotic hemorrhagic hepatitis-splenomegaly syndrome: An unsolved sudden death syndrome in layer leghorn chickens. Proc 36th Annual Meeting of American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Las Vegas, Nevada, 1993.

Riddell C. Hepatitis-Splenomegaly Syndrome. Diseases of Poultry 10th edition, 1041. Ames: Iowa State University Press, 1997.

Ritchie SJ, Riddell C. “Hepatitis-splenomegaly” syndrome in commercial egg laying hens. *The Canadian Veterinary Journal* 1991, J 32, 500–501.

Schofield DJ, Glamann J, Emerson SU, Purcell RH. Identification by phage display and characterization of two neutralizing chimpanzee monoclonal antibodies to the hepatitis E virus capsid protein. *Journal of Virology* 2000, 74(12), 5548–5555.

Schofield DJ, Purcell RH, Nguyen HT, Emerson SU. Monoclonal antibodies that neutralize HEV recognize an antigenic site at the carboxyterminus of an ORF2 protein vaccine. *Vaccine* 2003, 22(2), 257–67.

Su Q, Li Y, Meng F, Cui Z, Chang S, Zhao P. Hepatic rupture hemorrhage syndrome in chickens caused by a novel genotype avian hepatitis E virus. *Veterinary Microbiology* 2018, 222, 91-97.

Syed SF, Sun Y, Du T, Chen Y, Liu B, Wanga X, Li H, Nan Y, Zhou EM, Zhao Q. Evaluation of recombinant Chinese avian hepatitis E virus (CaHEV) ORF2 and ORF3 proteins for protection of chickens against CaHEV infection. *Vaccine* 2017, 35(27), 3482-3489.

Shivaprasad HL, Woolcock PR. Necrohemorrhagic hepatitis in broiler breeders. Proceedings of the 65th Western Poultry Disease Conference, 6. Sacramento, CA. 1995.

Shivaprasad HL, Saif YM, Duchatel JP, Vindevogel H. Hepatitis splenomegaly syndrome, in *Avian Diseases*, 12th Edition, Iowa State University Press, Iowa, 2008, 405–409.

Smith DB, Simmonds P, Members of ICTV Hepeviridae Study Group, Jameel S, Emerson SU, Harrison TJ, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WH, Purdy MA. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *Journal of General Virology* 2015, 96, 1191-1192.

Sprygin AV, Nikonova ZB, Zinyakov NG. Avian hepatitis E virus identified in Russian chicken flocks exhibits high genetic divergence based on the ORF2 capsid gene. *Avian Pathology* 2012, 41, 459–463.

Sun ZF, Huang FF, Halbur PG, Schommer SK, Pierson FW, Toth TE, Meng XJ. Use of heteroduplex mobility assays (HMA) for presequencing screening and identification of variant strains of swine and avian hepatitis E viruses. *Veterinary Microbiology* 2003, 96,165-176.

Sun ZF, Larsen CT, Dunlop A, Huang FF, Pierson FW, Toth TE, Meng XJ. Genetic identification of an avian hepatitis E virus (avian HEV from healthy chicken flocks) and characterization of the capsid gene of 14 avian HEV isolates from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in different geographic regions of the United States. *Journal of General Virology* 2004a, 85, 693-700.

Sun ZF, Larsen CT, Huang FF, Billam P, F. W. Pierson FW, Toth TE, Meng XJ. Generation and infectivity titration of an infectious stock of avian hepatitis E virus (HEV) in chickens and cross-species infection of turkeys with avian HEV. *Journal of Clinical Microbiology* 2004b, 42, 2658-2662.

Sun S, Chen, F, Cao S, Liu J, Lei W, Li G, Song Y, Lu J, Liu C, Qm J, Li H. Isolation and characterisation of a subtype C avian metapneumovirus circulating in Muscovy ducks in China. *Veterinary Research* 2014, 45, 74.

Tablante NL, Vaillancourt JP, Julian RJ. Necrotic, haemorrhagic, hepatomegaly hepatitis associated with vasculitis and amyloidosis in commercial laying hens. *Avian Pathology* 1994, 23, 725-732.

Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, Reyes GR. Hepatitis E virus: molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology* 1991, 185, 120-131.

Takahashi K, Kitajima N, Abe N, Mishiro S. Complete or nearcomplete nucleotide sequences of hepatitis E virus genome recovered from a wild boar, a deer, and four patients who ate the deer. *Virology* 2004, 330, 501-505.

Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *The Lancet* 2003, 362, 371-373.

Teo CG. Fatal outbreaks of jaundice in pregnancy and the epidemic history of hepatitis E. *Epidemiology & Infection* 2012, 140 (5), 767-787.

Tien NT, Clayson HT, Khiem HB, Sac PK, Corwin AL, Myint KS, Vaughn DW. Detection of immunoglobulin G to the hepatitis E virus among several animal species in Vietnam. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1997, 57, 211 (abstract).

Todd D, Mawhinney KA, McAlinden VA, Douglas AJ. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of big liver and spleen disease. *Avian Diseases* 1993, 37, 811–816.

Williams TP, Kasorndorkbua C, Halbur PG, Haqshenas G, Guenette DK, Toth TE, Meng XJ. Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. *Journal of Clinical Microbiology* 2001, 39, 3040–3046.

Yarborough PO, Tam AW, Fry KE, Krawczynski K, McCaustland KA, Bradley DW, Reyes GR. Hepatitis E virus: identification of type-common epitopes. *Journal of Virology* 1991, 65(11), 5790–5797.

Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *Journal of General Virology* 2003, 84, 2351–2357.

Yugo DM, Hauck R, Shivaprasad HL, Meng XJ. Hepatitis Virus Infections in Poultry. *Avian Diseases* 2016, 60, 576–588.

Zhang M, Emerson SU, Nguyen H, Engle R, Govindarajan S, Purcell RH, Gerin JL. Immunogenicity and protective efficacy of a vaccine prepared from 53 kDa truncated hepatitis E virus capsid protein expressed in insect cells. *Vaccine* 2001, 20(5–6), 853–857.

Zhang M, Emerson SU, Nguyen H, Engle R, Govindarajan S, Purcell RH, Gerin JL, Blackwelder WC. Recombinant vaccine against hepatitis E: duration of protective immunity in rhesus macaques. *Vaccine* 2002, 20(27–28), 3285–3291.

Zhao Q, Zhou EM, Dong SW, Qiu HK, Zhang L, Hu SB, Zhao FF, Jiang SJ, Sun YN. (2010). Analysis of avian hepatitis E virus from chickens, China. *Emerging Infectious Diseases* 2010, 16, 1469–1472.

Zhou YH, Purcell RH, Emerson SU. A truncated ORF2 protein contains the most immunogenic site on ORF2: antibody responses to non-vaccine sequences following challenge of vaccinated and non-vaccinated macaques with hepatitis E virus. *Vaccine* 2005, 23(24), 3157–3165.

EKLER

Ek 1. İllere, yetiştirme türüne ve yaşlara göre seropozitiflik dağılımları

	Broiler				Broiler Damızlık			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Aydın	68	0	68	0,00%	0	-	-	-
İzmir	165	17	148	10,30%	365	19	346	5,21%
Uşak	54	0	54	0,00%	300	26	274	8,67%
Denizli	89	1	88	1,12%	0	-	-	-
Manisa	54	7	47	12,96%	283	6	277	2,12%
Muğla	60	1	59	1,67%	0	-	-	-
Toplam	490	26	464	5,31%	948	51	897	5,38%
	Yumurtacı				Yumurtacı Damızlık			
	n	Poz.	Neg.	%	n	Poz.	Neg.	%
Aydın	0	-	-	-	0	-	-	-
İzmir	146	25	121	17,12%	20	0	20	0,00%
Uşak	0	-	-	-	0	-	-	-
Denizli	158	34	124	21,52%	0	-	-	-
Manisa	59	6	53	10,17%	0	-	-	-
Muğla	0	-	-	-	0	-	-	-
Toplam	363	65	298	17,91%	20	0	20	0,00%

Ek 2. Seropozitif broiler damızlıkların antikor titreleri ve titre grupları

Örnek No	Titre	Titre Grubu	Hayvan No	Titre	Titre Grubu
I	397	1	XXVII	755	1
II	419	1	XXVIII	799	1
III	434	1	XXIX	813	1
IV	439	1	XXX	863	1
V	442	1	XXXI	889	1
VI	447	1	XXXII	982	1
VII	452	1	XXXIII	1062	2
VIII	460	1	XXXIV	1066	2
IX	465	1	XXXV	1161	2
X	469	1	XXXVI	1201	2
XI	476	1	XXXVII	1355	2
XII	493	1	XXXVIII	1644	2
XIII	498	1	XXXIX	1683	2
XIV	513	1	XL	1886	2
XV	522	1	XLI	1980	2
XVI	528	1	XLII	2128	3
XVII	537	1	XLIII	2205	3
XVIII	564	1	XLIV	2210	3
XIX	582	1	XLV	2238	3
XX	622	1	XLVI	2423	3
XXI	638	1	XLVII	2524	3
XXII	665	1	XLVIII	2744	3
XXIII	674	1	XLIX	5248	6
XXIV	683	1	L	6738	7
XXVI	685	1	LI	7441	7
XXVII	705	1			

Ek 3: Seropozitif broilerlerin antikor titreleri ve titre grupları

Örnek No	Titre	Titre Grubu
I	402	1
II	407	1
III	410	1
IV	413	1
V	417	1
VI	420	1
VII	421	1
VIII	430	1
IX	441	1
X	500	1
XI	508	1
XII	511	1
XIII	520	1
XIV	527	1
XV	531	1
XVI	551	1
XVII	559	1
XVIII	591	1
XIX	600	1
XX	633	1
XXI	710	1
XXII	712	1
XXIII	785	1
XXIV	838	1
XXVI	1595	2
XXVII	1740	2

Ek 4. Seropozitif yumurtacıların antikor titreleri ve titre grupları

Örnek No	Titre	Titre Grubu	Hayvan No	Titre	Titre Grubu
I	402	1	XXXIV	938	1
II	408	1	XXXV	949	1
III	410	1	XXXVI	987	1
IV	419	1	XXXVII	1050	2
V	436	1	XXXVIII	1102	2
VI	436	1	XXXIX	1116	2
VII	439	1	XL	1147	2
VIII	441	1	XLI	1182	2
IX	449	1	XLII	1211	2
X	458	1	XLIII	1221	2
XI	462	1	XLIV	1319	2
XII	471	1	XLV	1328	2
XIII	480	1	XLVI	1401	2
XIV	500	1	XLVII	1420	2
XV	509	1	XLVIII	1422	2
XVI	520	1	XLIX	1497	2
XVII	526	1	L	1735	2
XVIII	568	1	LI	1796	2
XIX	575	1	LII	1905	2
XX	584	1	LIII	1943	2
XXI	597	1	LIV	2010	3
XXII	602	1	LV	2085	3
XXIII	660	1	LVI	2107	3
XXIV	662	1	LVII	2190	3
XXVI	742	1	LVIII	2198	3
XXVII	749	1	LIX	2405	3
XXVII	776	1	LX	3359	4

XXVIII	785	1	LXI	3487	4
XXIX	787	1	LXII	4196	5
XXX	797	1	LXIII	5417	6
XXXI	827	1	LXIV	5732	6
XXXII	840	1	LXV	8370	8
XXXIII	933	1			

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Umay Başak
Soyadı : AYDIN
Uyruk : TC
Doğum yeri ve tarihi : İstanbul, 18.09.1991
Yabancı Dil : Fransızca, İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2015
Lise	Özel Saint-Joseph Fransız Lisesi	2010

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2015 - Halen	Provet Veteriner Ürünleri San. Tic A.Ş.	İhracat Sorumlusu